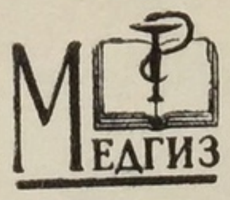
И. И. ИВАНОВ и В. А. ЮРЬЕВ

Биохимия патобиохимия мышц

ГОСУДАРСТВ

И. И. ИВАНОВ и В. А. ЮРЬЕВ

БИОХИМИЯ И ПАТОБИОХИМИЯ МЫШЦ



ГОСУДАРСТВЕННОЕ ИЗДАТЕЛЬСТВО МЕДИЦИНСКОЙ ЛИТЕРАТУРЫ
МЕДГИЗ
ЛЕНИНГРАДСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ • 1961

АННОТАЦИЯ

Книга рассчитана на врачей-клиницистов самого широкого профиля (невропатологов, терапевтов, акушеров, ортопедов, травматологов), биохимиков и физиологов. В ней излагаются современные биохимические представления о работе скелетной, сердечной и гладкой мускулатуры, освещаются основы патобиохимии мышц при различных заболеваниях нервно-мышечной системы (нарушение нервной трофики мышц, последствия полиомиелита, слабости родовой деятельности, спастические состояния гладкой мускулатуры и др.), описываются некоторые методы исследования мышечной ткани.

Издательство просит читателей отзывы присылать по адресу: Ленинград, Д-88, Невский пр., д. 28, Медгиз.

Замеченные опечатки

Страница	Строка	Напечатано	Следует читать	По чьей вине
23	6 снизу	напряжение, функцию	напряжение	Редакции
52	9 »	гладкой + 2АТР	гладкой + АТР	Автора
96	22 »	5600	56000	Корректора
121	11 сверху	вещества,	вещества:	Автора

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие 3

Часть первая

ОСНОВНЫЕ СВЕДЕНИЯ ПО БИОХИМИИ, МОРФОЛОГИИ И ФИЗИОЛОГИИ МЫШЕЧНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

Глава I. **Некоторые вводные сведения о морфологии, физиологии и биохимии мышц различных типов** 7

Поперечнополосатая мускулатура (анимальная, скелетная или соматическая мышечная ткань позвоночных) 8

Саркоплазма 9

Миофибриллы 11

Гладкая мускулатура и особенности ее сократительной деятельности 19

Некоторые особенности сократительной деятельности сердечной мышцы 31

Биоэлектрическая активность при возбуждении мышцы 33

Глава II. **Некоторые данные из истории развития мышечной биохимии** 35

Энергетические субстраты мышечной деятельности . . . . . —

Развитие представлений о путях использования энергии химических превращений в мышце 42

Глава III. **Дальнейшее развитие исследований по механохимии мышц (современное состояние вопроса)** 56

Исследование роли АТФ в акте мышечного сокращения . . . . . —

Роль фактора расслабления Марша 69

Глава IV. **Некоторые данные о механохимии и термодинамике мышечной деятельности** 73

Глава V. **Химический состав мышц** 82

Химический состав поперечнополосатых мышц . . . . . —

Мышечные белки 83

Саркоплазматические белки, растворимые в солевых средах с низкой ионной силой 84

Миофибриллярные белки 89

Миозин (*L*-миозин Вебера, β-миозин Дюбюиссона) . . . 90

Актин 95

Актомиозин (миозин *B*, α-миозин Дюбюиссона, S-миозин Вебера) 97

Тропомиозин 106

Другие водорастворимые миофибриллярные белки . . . 111

Белки стромы 114

Другие белковые вещества, входящие в состав мышечных волокон . . . . . —

Важнейшие небелковые (экстрактивные) азотистые вещества мышц 116
Важнейшие безазотистые вещества мышц 118
Минеральные элементы 119
Химический состав гладких тонических мышц 121
Белки гладкой тонической мускулатуры позвоночных животных —
Другие химические вещества 126
Сердечная мышца (миокард) . . . . . —
Глава VI. **Белки скелетных мышц в онтогенезе** . . . . . —
Глава VII. **Данные о химических превращениях, снабжающих энергией различные виды подвижных клеток и одноклеточных организмов** 136

Часть вторая

ПАТОБИОХИМИЯ МЫШЦ

Глава VIII. **Денервация** 151
Изменения мышц при денервации . . . . . —
Белки мышц и азотистый обмен 152
Углеводно-фосфорный обмен 158
Углеводно-фосфорный обмен в работающей денервированной мышце 159
Ферменты мышцы 161
Минеральный обмен 165
Десимпатизация мышц 166
Выключение чувствительной иннервации 167
Биохимические процессы в мышцах при реиннервации 168
Глава IX. **Тенотомия** 169
Биохимические изменения в тенотомированных мышцах 170
Азотистый обмен и белки мышц . . . . . —
Нарушение углеводно-фосфорного обмена 172
Биохимические сдвиги при иммобилизации 173
Глава X. **Прогрессивные мышечные атрофии** 175
Биохимические изменения при прогрессивных мышечных атрофиях 177
Белки мышц и азотистый обмен . . . . . —
Азотистые экстрактивные вещества мышц 180
Ферменты 183
Углеводно-фосфорный обмен 186
Минеральный обмен 188
Глава XI. **Полиомиелит и некоторые другие формы мышечной патологии** 190
Биохимические изменения при полиомиелите 191
Белки мышц и азотистый обмен . . . . . —
Углеводно-фосфорный обмен 198
Другие биохимические изменения при полиомиелите 199
Другие формы мышечной патологии 201
Глава XII. **Патобиохимические изменения в мышцах при некоторых общих заболеваниях** 204
Биохимические изменения в мышцах при некоторых гормональных нарушениях . . . . . —
Надпочечники . . . . . —
Щитовидная железа 206
Половые железы 207
Авитаминозы 209
Биохимические сдвиги в мышечной ткани при некоторых инфекциях и интоксикациях 213

Микробные и вирусные заболевания 213
Отравления 215
Глава XIII. **Биохимические нарушения в мышцах при наложении жгута** 216
Белки мышц и азотистый обмен 217
Углеводно-фосфорный обмен 219
Ферменты мышц . . . . . —
Биохимические сдвиги после снятия жгута 221
Глава XIV. **Изменение белкового состава мускулатуры сосудистой стенки при гипертонической болезни** 223

Часть третья

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Глава XV. **Методы получения некоторых мышечных белков и способы их исследования** 233
Приготовление актомиозина (миозина В) . . . . . —
Приготовление актина (по Штраубу) . . . . . —
Выделение миозина «А» из мышц 234
Приготовление «искусственного» актомиозина 235
Техника приготовления актомиозиновых нитей . . . . . —
Получение очищенного миозина . . . . . —
Получение кроличьего миозина, не содержащего примеси Ф-актина и актомиозина 236
Определение аденозинтрифосфатазной активности миозина . . . 237
Получение кроличьего тропомиозина (по Бэйли) 238
Получение миофибриллярного водорастворимого белка Цао . . . 240
Схема фракционирования мышечных белков (по И. И. Иванову с сотрудниками) 241
Фракционирование мышечных белков по И. И. Иванову с сотрудниками (1959 г.) . . . . . .
Получение «клеточных моделей» 242
Глава XVI. **Электрофорез мышечных белков** . . . . . —
Методика электрофоретических исследований мышечных белков 244
Экстрагирование мышечных белков 245
Свободный электрофорез мышечных белков 247
Электрофорез мышечных белков на бумаге 248
Техника электрофореза на бумаге 250
Препаративный электрофорез мышечных белков на бумаге . . 254
Литература 256

ПРЕДИСЛОВИЕ

Химическая динамика мышц издавна была одной из проблем, привлекавших внимание широких кругов биологов и биохимиков.

Однако изучение мышечной биохимии до недавнего времени представляло особый интерес главным образом для биологов-теоретиков, стремившихся понять на примере сокращения мышечного волокна общебиологическую закономерность — способность живой клетки к превращению химической энергии обменных процессов в механическую работу. Биохимики-клиницисты и врачи, интересующиеся вопросами медицинской химии, оставались в большинстве случаев в стороне от быстрого, временами даже стремительного, развития знаний в области химической динамики мышц. В лучшем случае они ограничивались проявлением самого поверхностного интереса к этой проблеме, считая, что врачу клиницисту нет особой необходимости вдаваться в изучение деталей этого слишком, по их мнению, абстрактного вопроса.

В настоящее время положение дела в этом отношении, однако, резко изменилось. Вопросы биохимии и патобиохимии мышц выходят уже за пределы интересов узкого круга специалистов биохимиков и физиологов и постепенно становятся достоянием всех тех врачей-клиницистов — ортопедов и травматологов, невропатологов, акушеров и других, которые так или иначе соприкасаются с различными формами мышечной патологии: параличами, дистрофиями, изменением мышечного тонуса, патологией родовой деятельности, сердечно-сосудистыми заболеваниями и т. д.

Изучение с биохимических позиций и с применением биохимических методов исследования нарушений функций мышечных органов при различных формах мышечной патологии входит уже в задачу многих клинических учреждений, институтов и лабораторий, призванных разрабатывать и решать те или иные вопросы научно-прикладного характера.

Отсюда вполне понятна необходимость издания обобщающих монографий по биохимии и патобиохимии мышц и соответствующих научно-методических руководств. До последнего времени все эти сведения и описания биохимических методов исследования мышц были рассеяны на страницах биохимических журналов или содержались в статьях и монографиях (Медгизом в 1950 г. была издана книга И. И. Иванова «Химическая динамика мышц и подвижных клеток», давно уже распроданная), написанных в большинстве случаев без учета специальных интересов врачей-клиницистов. Желая, по возможности, заполнить этот пробел в отечественной медицинской литературе, авторы решили придать своему труду не вполне обычный характер.

В соответствии с поставленными задачами предлагаемая вниманию читателей книга разделяется на три части: в первой части приводятся основные сведения по биохимии, морфологии, физиологии и отчасти термодинамике мышечной деятельности, т. е. те сведения, без которых было бы трудно излагать весь последующий материал. Здесь же кратко освещается и история вопроса. В этой части книги авторы, однако, не стремились охватить все стороны рассматриваемой проблемы. Этого не позволял, прежде всего, объем книги. Кроме того, составление исчерпывающего обзора казалось излишним в связи с периодической публикацией на страницах как наших, так и зарубежных научных журналов специальных обзорных статей, посвященных различным аспектам биохимии мышечной деятельности и клеточного движения. Все это побудило авторов в первой части книги более подробно остановиться лишь на тех вопросах мышечной биохимии, которые не получили почему-либо достаточного освещения в литературе или разрабатывались преимущественно в отечественных лабораториях. В отдельной главе этого раздела книги излагаются данные, полученные при сравнительно биохимическом изучении мышц в онтогенезе; начало этому направле-

нию исследования было положено, главным образом, работами советских авторов.

Во втором разделе книги рассматриваются вопросы биохимии некоторых форм мышечной патологии. Следует отметить, что по этому вопросу почти нет обзорной и монографической литературы. На русском языке известна книга Д. Л. Фердмана «Биохимия заболеваний мышц», изданная в 1953 г. В этой монографической работе используется экспериментальный материал, полученный в лаборатории автора, и рассматриваются биохимические сдвиги преимущественно при прогрессивной мышечной дистрофии.

Почти отсутствуют обзорные работы по патобиохимии мышц и в иностранной литературе. В связи с этим авторы сочли целесообразным привести основной фактический материал, накопленный к настоящему времени в области патобиохимии мышц.

Клинические формы нарушений мышечной деятельности многообразны. Помимо мышечных и нервно-мышечных заболеваний, объединяемых в самостоятельную группу под общим названием миопатий, выраженные изменения функционального состояния мускулатуры наблюдаются при различных формах патологии опорно-двигательного аппарата, при поражении нервной системы, а также при многих общих заболеваниях — авитаминозах, гормональных расстройствах и т. д.

Следует отметить, что причины возникновения многих форм нарушений мышечной деятельности не могут считаться выясненными. Почти совершенно не изучен генез нарушений функции гладкой мускулатуры.

В то же время является очевидным, что детальное изучение характера обменных нарушений и изменений состава мышечной ткани при различных патологических состояниях мускулатуры может значительно помочь в решении определенных вопросов патогенеза, рациональной терапии и прогноза этих заболеваний. Более того, изучение патобиохимии мышц может дать дополнительные сведения о направлении и объеме обменных сдвигов компенсаторного характера и тем самым выяснить пределы адаптации мышц к изменившимся условиям.

В последнем разделе книги затрагивается ряд методических вопросов. В этом разделе дается описание ряда биохимических методов исследования мышц, причем при изложении общеиз-

вестных приемов анализа авторы старались использовать лишь проверенные и более удобные для выполнения варианты. Сюда же включено описание и некоторых биохимических методов, которые еще не получили достаточно широкого распространения в лабораторной практике.

Часть первая написана И. И. Ивановым, часть вторая — В. А. Юрьевым, третья часть составлена обоими авторами этой книги. Общая редакция осуществлена И. И. Ивановым.

ЧАСТЬ ПЕРВАЯ

ОСНОВНЫЕ СВЕДЕНИЯ ПО БИОХИМИИ, МОРФОЛОГИИ И ФИЗИОЛОГИИ МЫШЕЧНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

ГЛАВА I

НЕКОТОРЫЕ ВВОДНЫЕ СВЕДЕНИЯ О МОРФОЛОГИИ, ФИЗИОЛОГИИ И БИОХИМИИ МЫШЦ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ

Современная биохимия отличается от физиологической химии конца прошлого — начала нашего века рядом особенностей. Одна из них заключается в том, что в настоящее время биохимики зачастую не могут уже проводить своих исследований без учета распределения изучаемых веществ между отдельными морфологическими структурами (особенно микроструктурами) клеток и тканей. В современной биохимии все большее значение приобретают гистохимические методы исследования, методы фракционирования важнейших клеточных элементов (ядер, гранул, микросом, пластид, «бесструктурной надосадочной жидкости» и т. д.). Для ясного понимания происходящих в клетке биохимических превращений необходимо знание морфологии клетки на «молекулярном уровне». Действительно, современная химия высокомолекулярных веществ, в частности белков, особенно фибриллярных белков, в равной мере занимается изучением как их химического строения, так и пространственной, геометрической конфигурации их молекул.

Отсюда широчайшее применение в различных разделах биохимии находят такие методы исследования, как электронная микроскопия, структурный рентгеновский анализ, фазовоконтрастная микроскопия, определение двойного лучепреломления в потоке и т. д. Таким образом современная биохимия теснейшим образом смыкается с биофизикой и микроморфологией клетки. С этим положением особенно приходится считаться при

изучении механо-химии мышечной деятельности. Вот почему мы считаем необходимым в книге, посвященной биохимии и патобиохимии мышц, познакомить читателя прежде всего с некоторыми сведениями о морфологии мышечной сократительной ткани, связав эти вопросы с биохимией и физиологией мышц различных типов.

Как известно, мышцы человека и позвоночных животных обычно принято подразделять на следующие три основные типа: поперечнополосатые мышцы, гладкие мышцы внутренних органов и занимающую в некоторых отношениях промежуточное положение сердечную мышцу.

ПОПЕРЕЧНОПОЛОСАТАЯ МУСКУЛАТУРА (АНИМАЛЬНАЯ, СКЕЛЕТНАЯ ИЛИ СОМАТИЧЕСКАЯ МЫШЕЧНАЯ ТКАНЬ ПОЗВОНОЧНЫХ)[1]

К поперечнополосатым мышцам относятся все быстро сокращающиеся мышцы, обеспечивающие произвольные движения тела. К ним принадлежат скелетные мышцы, приводящие в дви-

Рис. 1. Электронная микрограмма поверхности мышечного волокна (по Риду и Рудаллю, 1948).

жение связанные между собой сочленениями части скелета, мышцы языка и верхней трети пищевода, внешние мышцы глазного яблока и другие. К поперечнополосатым мышцам принадлежит и мускулатура крыльев и ножек летающих и бегающих насекомых. Именно эти мышцы насекомых обладают способностью к исключительно быстрой двухфазной деятельности.

Основным морфологическим элементом скелетной мышцы является мышечное волокно, обладающее поперечной исчерчен-

[1] У многих беспозвоночных (плоских и круглых червей, моллюсков и др.) анимальная мышечная ткань по своему строению является гладкой мышечной тканью.

ностью. Сокращение всей мышцы, как целого, нужно рассматривать как результат сокращения множества составляющих ее волокон. Каждое мышечное волокно, толщина которого обычно не превышает 0,1 мм (100μ) при длине до 12 см (в портняжной мышце человека), представляет собой, по мнению одних авторов (А. А. Заварзин и С. И. Щелкунов, 1954), своеобразную неклеточную структуру, по мнению же других—многоядерную клетку гигантских размеров, покрытую весьма эластичной оболочкой—сарколеммой. Эластичность сарколеммы определяется совокупностью эластических волокон, образующих на поверхности мышечного волокна довольно густую сеть (рис. 1).

Несомненно, что некоторая часть белков мышечной стромы, т. е. белковых веществ, не растворяющихся в солевых средах даже с высокой ионной силой,[1] состоит из коллагеновых структур сарколеммы. В состав мышечной стромы входят, кроме того, мало дифференцированные элементы рыхлой соединительной ткани, заполняющие все свободное пространство между отдельными мышечными волокнами. С соединительной тканью связаны многочисленные нервы и кровеносные сосуды (капилляры), которыми обильно снабжены скелетные мышцы.

Саркоплазма

Жидкая цитоплазма мышечного волокна, так называемая саркоплазма, заполняет внутреннее пространство между миофибриллами. В состав саркоплазмы входят различные белковые вещества (в том числе ферменты гликолиза), хорошо растворимые в соленых средах с низкой ионной силой (например, в 0,03 М фосфатном буфере или в 0,03 М KCl). При отпрессовывании измельченных мышц (мышечного фарша) под давлением 50—60 атм саркоплазма может быть получена в виде жидкого мышечного сока (мышечной плазмы). Общее содержание белка в нем около 12—13%.

Ядра мышечного волокна находятся в саркоплазме обычно непосредственно под сарколеммой. Они не имеют прямого отношения к сократительному аппарату и, по-видимому, являются в мышечных волокнах взрослых животных центрами некоторых видов обмена (ассимиляции). В состав ядер входят нуклеопротеиды — белки, богатые дезоксирибонуклеиновой кислотой (ДНК).

---

[1] Напомним, что ионной силой раствора называется полусумма произведений концентрации ионов на квадрат их валентности: $\mu = \frac{\Sigma c \cdot v^2}{2}$. В растворах с равной ионной силой растворенное вещество находится под приблизительно одинаковым воздействием со стороны силовых полей окружающих частиц. Легко видеть, что для солей, диссоциирующих с образованием одновалентных ионов, ионная сила (μ) совпадает с молярностью (М) раствора. В других случаях μ и М отличаются друг от друга.

При исследовании фракционного состава белков мышц с помощью общепринятых методов экстрагирования ядерные нуклеопротеиды извлекаются вместе с белками актомиозинового комплекса (см. стр. 97). Однако при работе с поперечнополосатой мускулатурой взрослых животных примесь нуклеопротеидов к актомиозину обычно во внимание не принимается, так как содержание нуклеопротеидов в этом типе мускулатуры невелико.

Иначе обстоит дело при изучении фракционного состава белков гладкой тонической мускулатуры внутренних органов, а также скелетных мышц эмбрионов. В этих случаях в мышечных экстрактах с высокой ионной силой, т. е. в «актомиозиновой фракции» на долю ядерных нуклеопротеидов приходится значительно большее в процентном отношении количество белка, что не может не сказываться на ряде свойств получаемых белковых растворов. Подробнее этот вопрос рассматривается в гл. V и VI.

Помимо ядер при микроскопическом исследовании саркоплазмы в ней легко обнаруживаются особые морфологические структуры липопротеидного характера — гранулы или саркосомы (Пэрри — Perry, 1956).

В настоящее время в мышечных волокнах обычно различают по крайней мере два вида гранул: большие гранулы, или митохондрии, и гранулы, занимающие промежуточное положение между митохондриями и наиболее мелкими органеллами клетки — микросомами.

Митохондрии играют важную роль в качестве центров окислительного обмена, окислительного фосфорилирования и образования АТФ. Митохондрии расположены в большом количестве вокруг миофибрилл, что, по-видимому, создает особенно благоприятные условия для снабжения контрактильных элементов мышц энергией, аккумулированной в фосфатных связях АТФ, во время сокращения.

С митохондриями связаны и ферменты, обладающие характером аденозинтрифосфатазы (АТФ-азы). Есть основания считать, что на долю АТФ-азы митохондрий (больших гранул) приходится около 20—25% общей АТФ-азной активности гомогенатов скелетных мышц (взрослых кроликов).

Саркосомы (гранулы) мышечной саркоплазмы могут быть отделены от жидкой части гомогената центрифугированием при 14 000 *g* в течение примерно 20 минут [1].

---

[1] Здесь *g* ускорение силы тяжести на поверхности земли равное 981 см/сек². Выражение 14 000*g* (или в более общей форме — *ag*) показывает, что центробежное ускорение, получаемое в ультрацентрифуге, превышает в 14 000 раз (или в *a* раз) ускорение силы тяжести на поверхности земли, равное 981 см/сек². Чтобы перейти от выражения, в котором фигурирует величина *a* к числу оборотов в минуту (n_{60}) можно воспользоваться следующим уравнением:

$$n_{60} = 60\sqrt{\frac{a \cdot 981}{4\pi^2 r}}.$$

Формула эта выводится следующим образом: угловая скорость $(\omega) = 2\pi r \cdot n$, где n — число оборотов в секунду. Угловое ускорение $a_\omega = \frac{\omega^2}{r}$.

При этом получается прозрачная жидкость, из которой при очень больших скоростях центрифугирования (около 100 000 *g*) удается выделить небольшое количество мельчайших частиц, диаметр которых не превышает 300—1000 Å. Эти частицы, по-видимому, соответствуют микросомам других тканей. Имеются многочисленные данные, позволяющие рассматривать микросомы как важные центры синтеза белка из так называемых активных форм аминокислот — аминоациладенилатов. В настоящее время, насколько известно, нет еще точных данных, характеризующих скорость обновления белков в микросомах мышечной ткани при различных функциональных состояниях и на различных стадиях развития.

С микросомами мышечных волокон связана и особая АТФ-аза, напоминающая по своим свойствам апиразу и заметно отличающуюся от АТФ-азы миозина (см. гл. V).

В последнее время было установлено (Портцель — Portzehl, 1958), что так называемый фактор Марша-Бендалла (см. стр. 64) — белковое вещество, резко снижающее АТФ-азную активность миозина, локализовано в гранулах саркоплазмы мышечных волокон. При отделении центрифугированием мышечных гранул от саркоплазматических водорастворимых белков способность последних резко снижать АТФ-азную активность миозина полностью утрачивается. Это наблюдение несомненно повышает интерес к саркоплазматическим включениям, в частности к саркосомам.

В саркоплазме мышечных волокон обычно можно обнаружить также зернистые включения, состоящие главным образом из гликогена и липоидов. В большинстве случаев эти включения можно рассматривать как своеобразные внутриклеточные депо питательных веществ. При голодании или усиленной мышечной деятельности капельки липоидов и зерна гликогена обычно исчезают.

Миофибриллы

В каждом мышечном волокне по его длине расположено множество фибрилл, толщиной около 1μ. Волокна белых мышц отличаются высоким содержанием миофибрилл. В красных волокнах, обладающих меньшей сократительной силой и меньшей утомляемостью, относительно меньше миофибрилл. В состав

Выразим теперь ускорение величиной, показывающей во сколько раз a_ω превышает ускорение силы тяжести на поверхности земли, и обозначим это отношение буквой *a*, тогда

$$a = \frac{a_\omega}{981} = \frac{\omega^2}{r \cdot 981} = \frac{(2\pi r n)^2}{r \cdot 981} = \frac{4\pi^2 r n^2}{981}.$$

Если решить это уравнение относительно *n*, получаем: $n^2 = \frac{a \cdot 981}{4\pi^2 r}$.

Откуда $n = \sqrt{\frac{a \cdot 981}{4\pi^2 r}}$; число оборотов в минуту $n_{60} = 60 \cdot \sqrt{\frac{a \cdot 981}{4\pi^2 r}}$.

миофибрилл входит ряд очень своеобразных белков, обусловливающих возможность попеременного сокращения и расслабления мышечных волокон.

Основная масса этих белков (в скелетных мышцах около 80%) состоит из белков актомиозинного комплекса, не растворяющихся в солевых средах с низкой ионной силой. Однако при помощи растворов с высокой ионной силой (0,35—0,4 и выше) большая часть этих белков может быть экстрагирована из миофибрилл.

Вопрос о наличии в различных скелетных мышцах волокон с неодинаковым содержанием актомиозина (волокон тетанических, тонических и переходных) изложен в работах Е. Г. Жукова (1956), А. В. Стрелиной, И. И. Иванова и Е. Г. Жукова, 1957.

Как известно, характерной особенностью миофибрилл поперечнополосатой мускулатуры является их поперечная исчерченность. Эта исчерченность выявляется при рассматривании мышечных волокон как в обычном микроскопе в проходящем свете, так и в поляризационном микроскопе. При наблюдении под микроскопом в обычных условиях волокна поперечнополосатых мышц кажутся состоящими из правильно чередующихся участков: более темных — анизотропных *A*-дисков и более светлых — изотропных *J*-дисков. Неодинаковая оптическая плотность *A*- и *J*-дисков, по-видимому, объясняется разным содержанием белка в этих структурах (см. стр. 17). В дисках *A* содержание белка выше, чем в дисках *J* и это приводит к тому, что в проходящем свете диски *A* кажутся более темными, чем диски *J*. При наблюдении в поляризованном свете темные (анизотропные) участки обнаруживают выраженное положительное двойное лучепреломление; светлые (изотропные) диски являются оптически однородными или, точнее, обнаруживают лишь слабое положительное двойное лучепреломление[1].

---

[1] Двойным лучепреломлением, как известно, называется явление расщепления луча света при прохождении его через так называемые анизотропные среды на два поляризованных луча: луч обыкновенный и луч необыкновенный. Эти лучи поляризованы в двух взаимно-перпендикулярных плоскостях и распространяются в анизотропной среде с разными скоростями (подробнее этот вопрос излагается в специальных руководствах).

При рассматривании какого-либо предмета через пластинку, вырезанную из анизотропного вещества, благодаря возникновению двойного лучепреломления предмет этот кажется раздвоенным.

Двойное лучепреломление (*ДЛ*) обнаруживает вещества с неполной внутренней симметрией. Некоторые физические свойства таких веществ оказываются различными в разных направлениях.

ДЛ наблюдается у многих кристаллов (за исключением кристаллов высокой симметрии), у некоторых твердых аморфных тел, подвергнутых механическому натяжению; *ДЛ* может также появиться у жидкостей, помещенных в сильные магнитные или электрические поля; оно ярко выражено у так называемых жидких кристаллов, жидкостей, в которых сохраняется ориентация молекул, сходная с молекулярной ориентацией в кристалле.

Применение специальных методов микроскопического исследования позволило установить, что каждый светлый диск разделяется на две части узкой полоской, получившей название полосы или диска *Z*, иначе диска *T*. По-видимому, полосы *Z*, состоящие из коллагенового вещества, представляют собой тончайшие эластические мембраны, перегораживающие мышечные волокна и связанные с сарколеммой. Если это так, то эти образования несомненно должны играть определенную роль в механизме возвращения к исходной длине сократившегося мышечного волокна в фазе расслабления (см. И. И. Иванов, 1950 а, б, в).

Каждый сегмент мышечного волокна, отграниченный двумя полосками *Z*, принято называть саркомером (или инокоммой). Таким образом, поперечнополосатые мышечные волокна состоят из множества отдельных саркомеров.

В расслабленной мышце, находящейся в состоянии покоя, высота диска *A* несколько больше высоты дисков *J*. В мышцах лягушки, например, высота саркомера равна 2,5 μ, высота

Биологические объекты весьма часто обнаруживают способность к двойному лучепреломлению, которое может зависеть от двух различных причин.

1) Белковая структура сама может иметь микрокристаллическое строение, т. е. состоять из одноосных мицелл, подобных двоякопреломляющим кристаллам. В этом случае говорят об истинном или собственном *ДЛ*.

Однако, *ДЛ* белковых гелей и золей ясно обнаруживается лишь в том случае, когда мицеллы белка оказываются определенным образом ориентированными в пространстве. Обычно это наблюдается в быстро текущих растворах фибриллярных белков. В этих случаях говорят о двойном лучепреломлении в потоке (ДЛП). В неподвижных растворах, в которых одноосные мицеллы белка расположены совершенно хаотично, *ДЛ* не обнаруживается или наблюдается лишь в очень слабой степени.

2) Способность вещества к *ДЛ* не всегда, однако, связана с наличием более или менее выраженной асимметрии на молекулярном (мицеллярном) уровне. *ДЛ* иногда обнаруживают и такие вещества, которые можно рассматривать как системы, образованные однородной средой со взвешенными в ней в определенном порядке (определенным образом ориентированными в пространстве) достаточно крупными, легко видимыми под обычным микроскопом, палочковидными частицами, состоящими из аморфного вещества, коэффициент преломления которого достаточно отличается от коэффициента преломления окружающей среды. В этом случае говорят о двойном лучепреломлении формы (Formdoppelbrechung).

Существуют способы отличать собственное *ДЛ* от *ДЛ* формы. *ДЛ* формы исчезает, например, при пропитывании рассматриваемого объекта жидкостью, коэффициент преломления которой равен коэффициенту преломления палочковидных частиц.

Собственное *ДЛ* в этих условиях, напротив, сохраняется.

ДЛ A-дисков миофибрилл по своей природе является собственным *ДЛ* и обусловлено наличием в *A*-дисках большого количества сократительного белка актомиозина, обладающего фибриллярной структурой, т. е. состоящего из нитевидных мицелл, тянущихся параллельно большой оси волокна. Определение величины *ДЛ A*-дисков миофибрилл при различных функциональных состояниях мышц сильно затрудняется наличием у миофибрилл и *ДЛ* формы. Последним обстоятельством в известной мере объясняется и обилие в литературе противоречивых данных по этому вопросу.

диска A колеблется около 1,4—1,5 μ, высота диска J выражается величиной 1,0—1,1 μ.

Помимо дисков A и J и полосы Z в саркомерах обычно различают следующие структуры, которые, впрочем, можно обнаружить не в любой фазе сокращения: достаточно отчетливо выявляется так называемый диск H (по средине диска A) и полоса M в диске H. Эти структуры, однако, не всегда удается рассмотреть в невозбужденных мышечных волокнах (рис. 2).

При растягивании мышцы можно обнаружить появление особого диска E (диска Фильпота — Сент-Дьердьи). По мнению названных авторов, диски E состоят из эластической субстанции, присутствие которой вытекает из анализа кривых, отражающих связь между длиной и напряжением мышцы (Хилл — Hill, 1938). На других менее четко выраженных структурах саркомеров мы здесь останавливаться не будем.

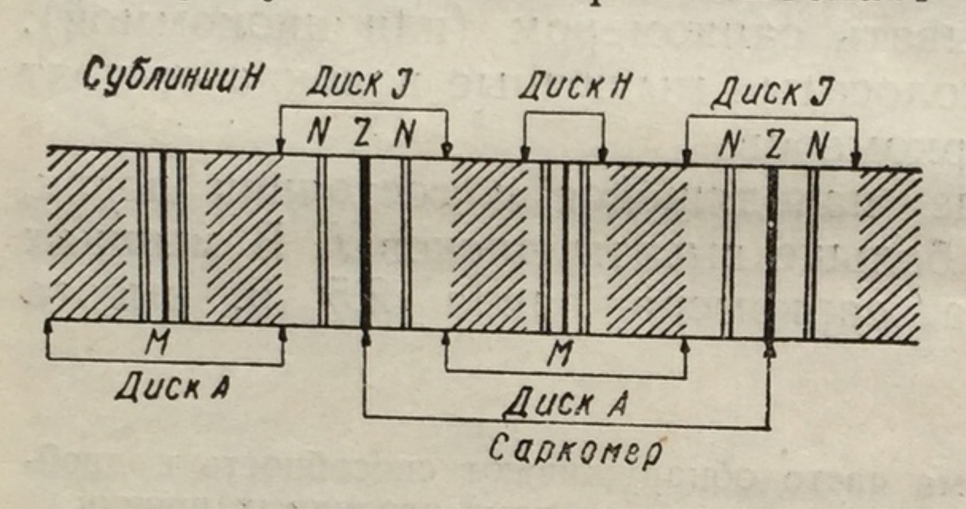


Рис. 2. Схема строения саркомера.

Ультрамикроскопическое строение поперечнополосатых миофибрилл. Ультрамикроскопическое строение поперечнополосатых миофибрилл привлекало внимание многих исследователей. Было очевидно, что изучение изменений на молекулярном уровне, наступающих в поперечноисчерченных миофибриллах при их сокращении и расслаблении, может ближе всего подвести нас к пониманию механизма превращения в клетке химической энергии в механическую работу. Нет действительно сомнений в том, что поперечная исчерченность каким-то образом обеспечивает наибольшее развитие сократительной функции мышц. В то же время нельзя забывать, что локомоторная гладкая мускулатура многих беспозвоночных, лишенная поперечной исчерченности, позволяет этим животным осуществлять иногда весьма быстрые и интенсивные движения. Таким образом, любая теория мышечного сокращения, базирующаяся исключительно на фактах, установленных при изучении механизма сокращения поперечнополосатой мускулатуры, неизбежно должна страдать некоторой односторонностью. Здесь же можно напомнить и о существовании целого ряда быстро сокращающихся клеточных органелл движения (жгутиков, ресничек и т. п.), также лишенных поперечной исчерченности.

Поскольку, однако, наиболее существенные представления о механизме клеточного сокращения сложились в результате изучения двухфазной деятельности главным образом поперечнополосатых миофибрилл, представляется целесообразным познакомиться прежде всего именно с этими данными.

К сожалению, даже беглое ознакомление с важнейшими работами в этой области и обзорными статьями (Пэрри, 1957, Бухталь и др. — Buchthal a. oth., 1956) позволяет прийти к выводу об отсутствии единства взглядов у отдельных авторов, изучавших этот вопрос. Противоречивость литературных данных объясняется, по-видимому, не только несовершенством применявшихся до недавнего времени методов исследования и возможностью возникновения в связи с этим искажающих картину артефактов, но и различием условий, при которых производилось изучение поперечной исчерченности миофибрилл при их сокращении (изменений размеров и высоты *A* и *J*-дисков).

Так, например, наблюдаемая под обычным микроскопом картина, как оказывается, зависит от степени сокращения волокна. Если степень сокращения миофибрилл не превышает обычных физиологических величин, то наблюдаемые изменения в размере *A* и *J* дисков значительно отличаются по своему характеру от изменений, возникающих при более сильном укорочении (например, при воздействии на мышечные волокна, мацерированные в 50% глицерине, раствора аденозинтрифосфата). Изменения в поперечной исчерченности при сокращении живой мышцы, по-видимому, могут отличаться от изменений, наблюдаемых на гистологических препаратах, приготовленных из сокращенной и затем убитой фиксацией мышечной ткани и т. д.

Наиболее интересными и заслуживающими детального ознакомления являются несомненно те исследования, в которых вопрос об изменении поперечной исчерченности миофибрилл при их сокращении связывается с изучением тонкого механизма изменения на молекулярном уровне самого белкового субстрата сокращения, локализованного в *A* и *J*-дисках. В этом отношении особенно важна работа Хаксли и Нидергерке (Huxley, Niedergerke, 1954), которым удалось с помощью наиболее совершенных методов микроскопического исследования изучить изменение размеров дисков *A* и *J* при изотоническом и изометрическом сокращении живых мышц.

Согласно этим авторам, при умеренной степени сокращения миофибрилл (на 25—30% от исходной длины) укорочение происходит за счет изменения размеров (высоты) лишь дисков *J*.

Однако более сильное укорочение связано с изменением размеров (высоты) и дисков *A*.

Очень важным следует считать исследования Хаксли (1953), Хаксли и Хансон (Huxley a. Hanson, 1954), Хансон и Хаксли (1955) тонкой ультрамикроскопической структуры поперечнополосатых миофибрилл. Используя электронный микроскоп с высокой разрешающей способностью и наиболее совершенные методы приготовления ультратонких срезов, эти авторы не только подтвердили высказанное рядом гистологов, задолго до начала эры электронномикроскопических исследований, представление, согласно которому миофибриллы состоят из множества тончайших элементарных нитей (протофибрилл по Сент-Дьердьи), но и внесли большую ясность в вопрос о роли этих элементарных нитей в акте мышечного сокращения. Согласно

Хансон и Хаксли (1955), элементарные нити в миофибриллах представлены по крайней мере двумя типами волоконец. Одни из них имеют диаметр 110 Å, другие — 40 Å. Непрерывные однородные нити, видимые на препаратах, приготовленных из продольных срезов миофибрилл, по Хансон и Хаксли, являются лишь артефактами. В действительности они образуются путем продольной агрегации, (слипания) нитей двух различных типов.

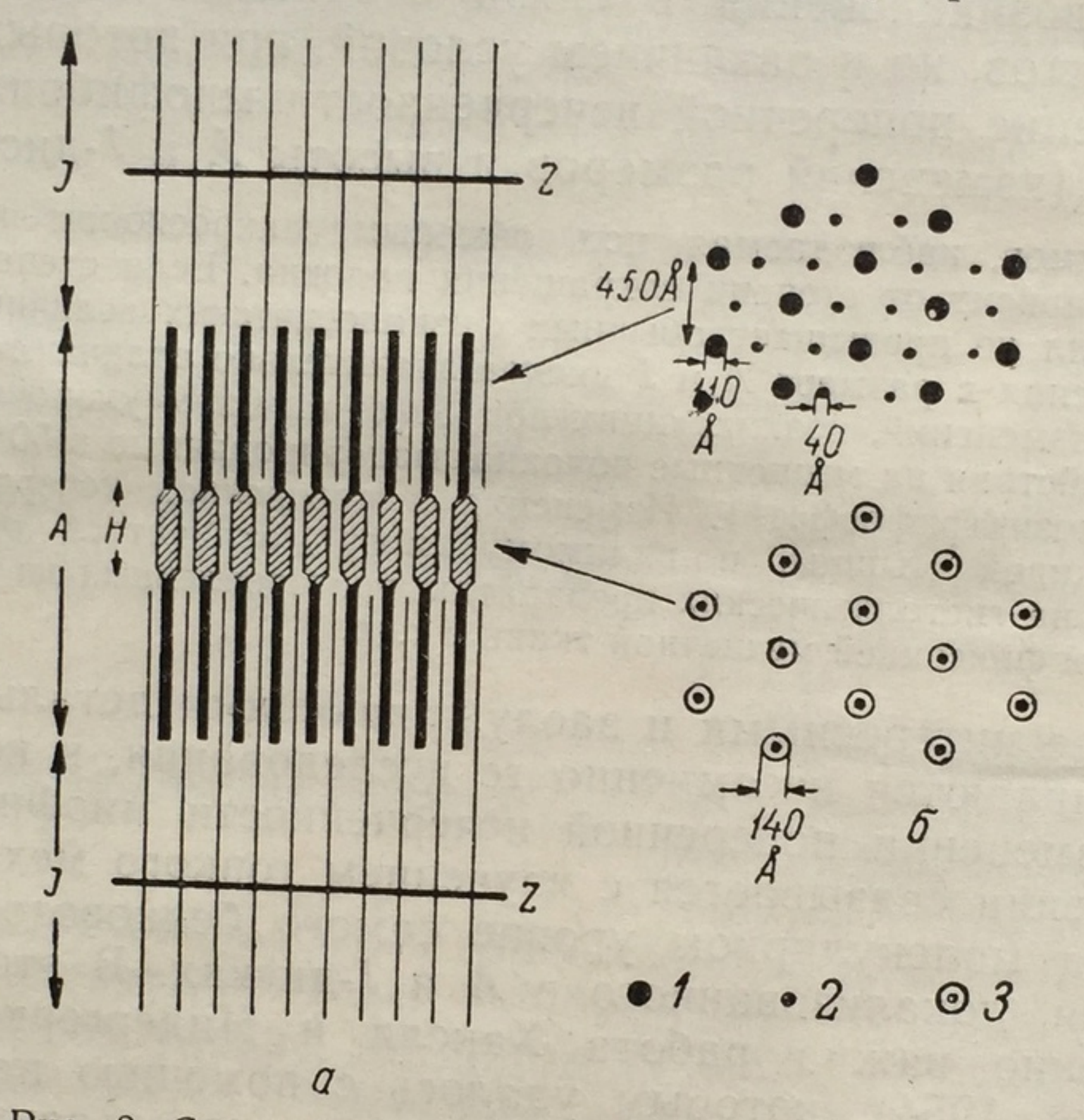


Рис. 3. Схема строения миофибриллы по данным электронномикроскопических исследований (по Пэрри).

а — продольный срез; *б* — поперечный срез через диски *A* и *H*. *1* — толстые нити; *2* — тонкие нити; *3* — толстые нити в диске *H*.

450 Å — расстояние между нитями в ангстремах; *110* и *40* Å — толщина нитей в ангстремах; *140* Å — толщина нитей в ангстремах в диске *H*.

На поперечных срезах через миофибриллы на уровне дисков *J* хорошо видно, что через диск *J* проходят только более тонкие нити (нити *J*). Эти же нити можно обнаружить и в дисках *A* до границы с полосой *H* (рис. 3, б). Напротив, толстые нити (нити *A*) тянутся через весь диск *A*, в том числе и через диск *H*. Другими словами, нити А расположены между двумя границами *A* и *J* дисков, а нити *J* тянутся в пределах каждого саркомера от диска *Z* (с которым они прочно связаны) до внутренней границы диска *A* с диском *H*.

В схематической форме расположение элементарных нитей *A* и *J* в миофибриллах изображено на рис. 3, *а*. Из рисунка видно, что плотность элементарных нитей больше в диске *A*,

чем в диске J. Этим и объясняется большая оптическая плотность дисков A по сравнению с дисками J и возникновение картины поперечной исчерченности при рассматривании миофибрилл в проходящем свете в обычном микроскопе.

Важные сведения о механизме сокращения поперечнополосатых миофибрилл были получены Хаксли и Хансон (1954) в результате сочетания метода электронномикроскопического исследования с методом экстрагирования отдельных мышечных белков специально подобранными растворами с высокой ионной силой. Таким путем Хаксли и Хансон было установлено, что при обработке расслабленных миофибрилл солевыми растворами с высокой ионной силой (см. также Хассельбах — Hasselbach, 1953) очертания толстых нитей, проходящих через весь A диск (включая H-диск), исчезают.

Вместе с тем в остатке миофибрилл сохраняются очертания тонких J-нитей. Анализ полученного белкового экстракта показал, что он состоит главным образом из миозина с небольшой примесью водорастворимых миофибриллярных белков (см. гл. V, стр. 89). Если оставшиеся после первого экстрагирования «тени» миофибрилл подвергнуть вторичной обработке солевыми растворами с целью извлечения белка из J-нитей, то в результате этого из морфологических структур миофибрилл сохраняются лишь Z диски. В экстракт в этом случае переходит, однако, не миозин, но актин (см. гл. V, стр. 95).

Отсюда Хаксли и Хансон было сделали заключение, что A-нити состоят в основном из миозина, а J-нити — из актина.

Таким образом, в расслабленной мышце актомиозин, т. е. комплекс, состоящий из миозина и актина, находится лишь в участках A-дисков, граничащих с J-дисками, где нити миозина продольно ассоциированы с нитями актина, тогда как в J-дисках имеются лишь актиновые, а в H-дисках только миозиновые нити.

Нельзя, однако, не упомянуть о том, что миозиновые нити по каким-то причинам несколько утолщены в области H-диска. Их диаметр в этой зоне не 110 Å, а 140 Å.

При сокращении миофибрилл J-диски уменьшаются в своих размерах и, наконец, исчезают (Хансон и Хаксли, 1955; Хаксли и Нидергерке, 1954; Хаксли, 1957).

При этом система нитей актина входит в H-диск, находящийся в середине A-диска (рис. 4). Актин таким образом при сокращении перемещается из дисков J в диски A, причем почти весь белок миофибрилл оказывается уже состоящим из актомиозина (т. е. нитей актина, продольно ассоциированных с нитями миозина).

В этих новых представлениях особого внимания заслуживает положение о локализации двух важнейших механоактивных белков — миозина и актина — в пространственно обособленных

структурах миофибрилл. Принципиально важным является также положение, согласно которому при мышечном сокращении нити миозина и актина не подвергаются «складыванию», как это допускалось ранее, например, в теории мышечного сокращения Мейера (см. стр. 76). В свете новых данных сокращение является следствием скольжения нитей актина вдоль ни-

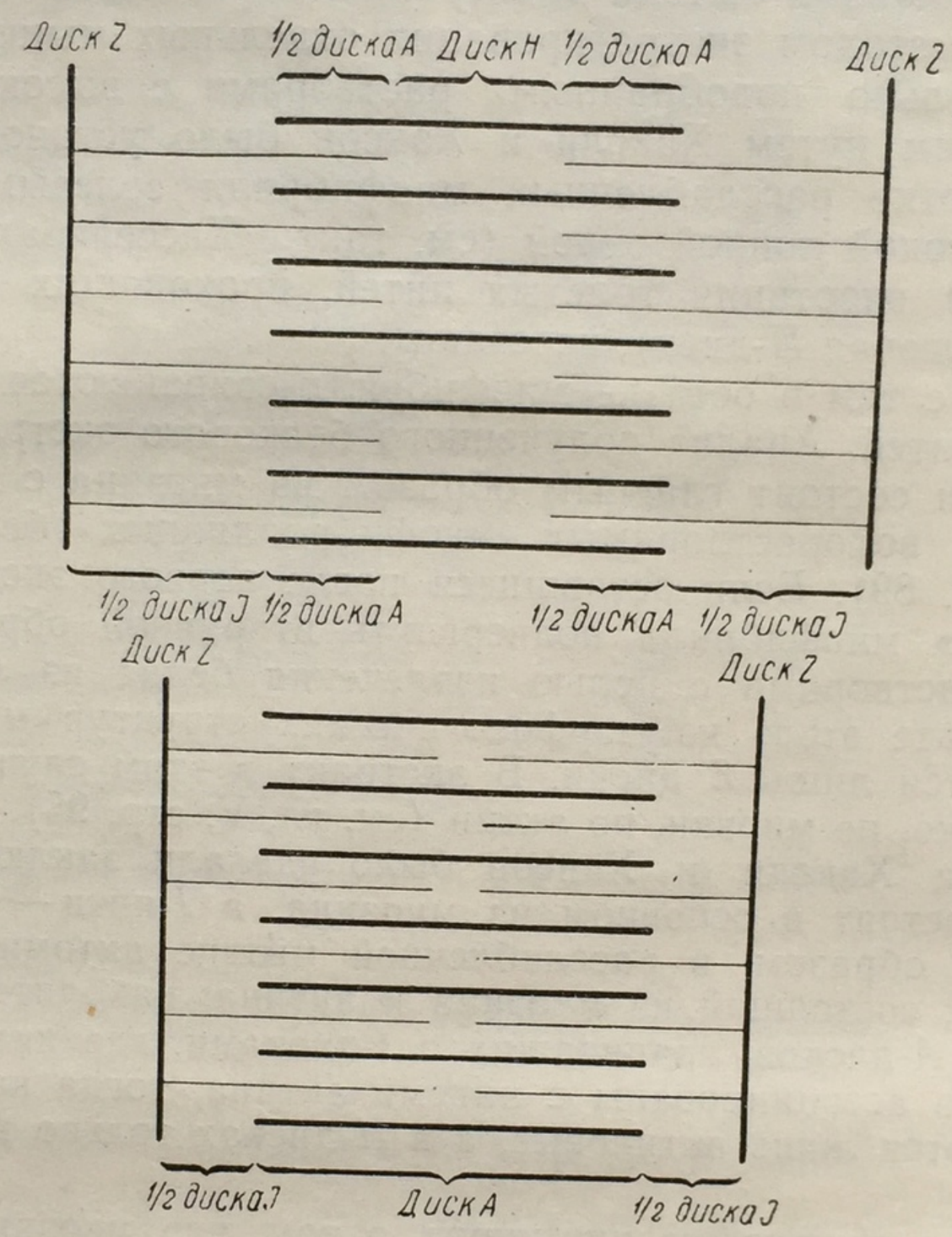


Рис. 4. Схема сокращения саркомера по данным электронномикроскопических исследований.

тей миозина, которое, по-видимому, не сопровождается существенным изменением их формы и длины.

Все же эти представления ни в коем случае нельзя еще считать общепринятыми.

Есть основания считать, что сокращение миофибрилл (особенно сильное сокращение) должно быть связано как с проникновением актиновых нитей в систему миозиновых нитей (в диске *A*), так и с некоторым их скручиванием. Без этого допущения при количественных расчетах нельзя объяснить возможность сокращения живой мышцы более, чем на 25—30%. Неясной остается и локализация в саркомерах других мио-

фибриллярных белков (тропомиозина и др., см. гл. V). Критику работ английской школы (Хаксли и Хансон) можно найти в обзорной статье Гелфан (Gelfan, 1958), в ряде работ Ходжа (Hodge, 1955, 1956, 1959), Шъёстранда и Андерсона (Sjöstrand a. Andersson, 1956), Шъёстранда (1960), Моралеса (Morales, 1959), а также в обзоре Б. Ф. Поглазова (1960), монографии А. Н. Студитского (1959) и др.

ГЛАДКАЯ МУСКУЛАТУРА И ОСОБЕННОСТИ ЕЕ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

Как известно, гладкими мышцами у человека и позвоночных животных называют мышечные оболочки внутренних органов (кишечника, желудка, матки, мочевого пузыря, мочеполовых органов и др.) и кровеносных сосудов. К этому же типу мышечной ткани относятся мышечные сократительные элементы, вкрапленные в соединительную ткань кожи и различных органов.

Гладкая мускулатура позвоночных по ряду признаков и свойств резко отличается от поперечнополосатых мышц.

Прежде всего необходимо напомнить, что эти два вида мускулатуры происходят из разных эмбриональных закладок. Гладкомышечные элементы позвоночных развиваются из мезенхимы. Эмбриональным же зачатком почти всей высокодифференцированной соматической (скелетной) мускулатуры у позвоночных является миотомы, т. е. та часть спинных сегментов, которая остается после выделения всех мезенхимных зачатков (цит. по А. А. Заварзину и С. И. Щелкунову, 1954).

Таким образом, гладкие мышечные клетки позвоночных близки к фибробластам, также происходящим из недифференцированной мезенхимы. Поэтому новообразование гладких мышечных клеток всегда возможно и во взрослом организме из мало дифференцированных соединительнотканных элементов. Такое новообразование гладкомышечных волокон наблюдается, например, при беременности в мышце матки, при превращении капилляров в более крупные сосуды в результате изменения условий кровотока и т. д.

Вместе с тем, необходимо со всей определенностью подчеркнуть, что локомоторные гладкомышечные волокна беспозвоночных, способные к быстрым сокращениям и нередко объединяемые на основании отсутствия в них поперечной исчерченности в единую с мезенхимной мускулатурой позвоночных гладкомышечную ткань, представляют собой, по данным Н. Г. Хлопина, по сути дела модификацию мускулатуры соматического типа. По ряду свойств способности к тетаническому сокращению, чувствительности к индукционному току, подчинению закону «все или ничего», и, наконец, по высокому содержанию миозина и актомиозина (см. стр. 97) эти мышцы наиболее близки к

поперечнополосатой мускулатуре. Это обстоятельство особенно следует иметь в виду при изучении различных типов мышц с биохимических позиций.

Само собой разумеется, что все вышеизложенное никоим образом не исключает существования у беспозвоночных типичной тонической гладкой мускулатуры, приспособленной к выполнению тех же самых функций, которые выполняют гладкие мышцы внутренних органов и стенок сосудов у позвоночных животных.

Морфологическим элементом гладкой мускулатуры мезенхимного происхождения является веретенообразная одноядерная клетка, длиной чаще всего 60—100 μ (нередко 200, реже до 500 μ) и диаметром 4—5 μ.

Гладкомышечные клетки, как и поперечнополосатые мышечные волокна, состоят из саркоплазмы и миофибрилл. Последние, однако, не обнаруживают поперечной исчерченности и состоят на всем протяжении из вещества, обладающего заметным положительным одноосным двойным лучепреломлением (ДЛ).

Сократительным элементом гладкой мышечной клетки как и поперечнополосатого волокна, по новейшим данным, следует считать миофибриллы. Существенно, что гладкие мышечные клетки лишены внешней оболочки — сарколеммы. Впрочем, по данным некоторых авторов (Г. И. Роскин), гладкие мышечные клетки покрыты все же тончайшей оболочкой — миолеммой, образованной сплетением коллагеновых волоконцев и межклеточного вещества.

Как и в поперечнополосатом волокне, саркоплазма гладкой мышечной клетки представляет собой еще довольно сложную систему, в которой можно обнаружить ряд микроструктур.

Существенным является присутствие в саркоплазме мельчайших частиц микросом, обладающих АТФ-азной активностью, отличающейся по ряду свойств, например, по устойчивости к высокому давлению порядка 4000 ат. (И. И. Иванов и Т. И. Иванова, 1951), от АТФ-азы миозина. Активность этой АТФ-азы особенно велика в гладкой мускулатуре миометрия (Нидэм и Коукуэл — Needham a. Cawkwell, 1956; И. И. Иванов и сотр., 1959).

При обычных способах получения миозина и актомиозина из гладких мышц микросомы также переходят в экстракт и это приводит к повышению АТФ-азной активности KCl — экстрактов за счет не миозиновой АТФ-азы. Таким образом, для измерения истинной АТФ-азной активности миозина в этих случаях необходимо отделение от миозина микросом с помощью ультрацентрифугирования.

Гладкие мышцы отличаются от скелетной мускулатуры и по характеру сократительной деятельности. Возбудимость гладких мышц значительно ниже возбудимости поперечнополосатой мускулатуры; проведение возбуждения протекает в типичных гладких мышцах весьма медленно; скрытый период сокращения

(возбуждения) у них много больше; хронаксия их очень велика, пластичность, т. е. способность принимать разную длину без изменения напряжения, выражена у гладких мышц в значительно большей степени, чем у скелетных и т. д.

Более подробно особенности сократительной деятельности гладкой мускулатуры изложены в ряде руководств по физиологии (см., например: И. С. Беритов «Общая физиология мышечной и нервной системы», 3-е изд., М.-Л., 1959; Е. Г. Жуков «Исследование о тонусе скелетных мышц», Медгиз, 1956).

Наиболее важно, что одиночное сокращение гладкой мышцы (например, стенки желудка) и особенно ее расслабление, наступающее вслед за сокращением, чрезвычайно растянуты во времени (рис. 5).

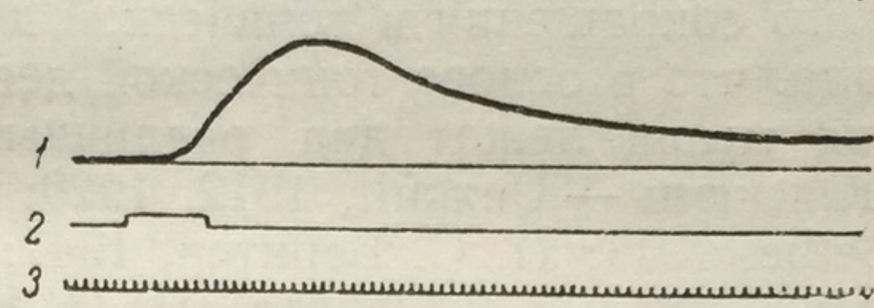


Рис. 5. Кимограмма сокращения и расслабления гладкой мышцы.

1 — кривая сокращения гладкой мышцы желудка лягушки; *2* — раздражение постоянным током; *3* — время в секундах.

Интересной особенностью некоторых гладких мышц является также их способность «застывать» или отвердевать, точнее, оказывать сопротивление силам, стремящимся растянуть мышцу, при той или иной степени сокращения, не производя непрерывной затраты энергии. Такое пребывание мышцы в состоянии тонического укорочения (запирательная функция мышцы) обычно не связано с существенным изменением или усилением биоэлектрической активности.

Ясно выраженные токи действия от запирательного мускула моллюсков получаются, по данным Фрелиха и Майера (Fröhlich u. Mayer, 1912), подтвержденным и рядом более поздних работ, только при быстрых запирательных сокращениях или при переходе мышцы от одного состояния тонического укорочения к другому. Во время удержания устоявшегося тонуса или очень медленного расслабления биоэлектрическая активность мало отличается от состояния покоя.

Запирательную функцию гладкой мускулатуры можно, очевидно, рассматривать как отсутствие расслабления или замедленное расслабление. Длительное многочасовое тоническое сокращение, по-видимому, представляет собой не что иное как накладывание или суперпозицию отдельных сокращений все более затягивающихся во времени в результате вязкого последействия.

Интересно, что тоническое напряжение гладкой мускулатуры сопряжено с крайне незначительным расходованием химической энергии, в сотни раз меньшим, чем при тетаническом напряжении соответствующей силы (точнее при удержании поперечнополосатой мышцей, находящейся в состоянии тетанического сокращения, груза такого же веса).

Можно считать вполне установленным, что наблюдавшееся рядом авторов заметное повышение обмена при развитии тонуса (имеется в виду пластический, запирательный тонус) было, строго говоря, связано с периодическим возникновением поддерживающих тонус отдельных редких волн возбуждения.

Дискуссия о существовании двух субстратов мышечной деятельности — субстрата сокращения и субстрата неутомляемого тонуса, переходящего в ряде случаев в запирательное действие, долгое время велась почти исключительно морфологами и физиологами.

Эта дискуссия вращалась вокруг вопроса о существовании функционально и анатомически различных субстратов тетанического сокращения и тонической деятельности. Одни авторы считали, что в основе тонической деятельности и фазного сокращения мышц лежат два различных сократительных механизма (Юкскюль — Uexküll, 1912, 1929; Парнас — Parnas, 1910; Бете — Bethe, 1911; И. С. Беритов, 1947; и др.) или даже два различных белковых субстрата (И. И. Иванов, 1949, 1950; И. И. Иванов и Е. Г. Киселева, 1948, см. также И. И. Иванов и Н. И. Мирович, 1958); другие же рассматривали особенности в тонической и тетанической деятельности мышц исключительно как количественные, а не качественные отличия.

Историю этого вопроса читатель может найти в специальных обзорах по мышечной физиологии и биохимии (см. например: Е. К. Жуков, 1956, И. И. Иванов, 1950 а, б).

В настоящее время имеется уже возможность нарисовать по-видимому, правильную картину взаимосвязи между тетанической и тонической деятельностью мышцы. Здесь и всюду ниже имеется в виду неутомляемый пластический тонус гладкой мускулатуры.

Как уже упоминалось, тоническое сокращение действительно можно рассматривать как суммацию чрезвычайно замедленных во времени волн сокращения. Однако, в то же время не подлежит сомнению, что сама способность мышцы к вязкому последействию, приводящему к крайне медленному расслаблению сократившейся мышцы, переходящему в ряде случаев в запирательную функцию, определяется присутствием в мышечных волокнах особого белка (или белковой системы), не идентичной актомиозину.

Самый тип мышечного органа, приспособленность его к быстрым фазным движениям или, напротив, к осуществлению медленно протекающего тонического сокращения и длительному пребыванию мышцы в состоянии неутомляемого тонического укорочения, определяется несомненно фракционным составом белков миофибрилл. Это, конечно, нисколько не противоречит тому, что одна и та же мышца, если в состав ее входят оба белковых субстрата, может в зависимости от условий раздражения отвечать на него либо относительно быстрым подергиванием, либо медленным «тоническим» укорочением.

Такого рода взгляд оказалось возможным обосновать в результате изучения мышц различных типов с помощью новейших методов исследования контрактильных белков мышц.

Поскольку в настоящее время известно, что сокращение самых различных органов и органелл движения (мышц, в том числе и гладких тонических, ресничек, жгутиков и т. д.) обусловлено изменением в результате взаимодействия с АТФ физического состояния белков актомиозинового комплекса или белков, близких по своим свойствам (контрактильности и наличию АТФ-азной активности) к актомиозину, представляло большой интерес изучение вопроса о содержании актомиозина в мускулатуре различных типов. Исследования, проведенные И. И. Ивановым и сотрудниками (И. И. Иванов и Е. Г. Киселева, 1948; И. И. Иванов, 1949, 1950 а, б; И. И. Иванов и сотр., 1959; И. И. Иванов и В. Д. Блохина, 1955), позволили установить существование, с одной стороны, ярко выраженного параллелизма между содержанием в мышечной ткани белков актомиозинового комплекса и способностью мышцы к быстрым и сильным сокращениям, с другой стороны, отсутствие какой-либо корреляции между способностью мышцы к развитию и поддержанию тонического противодействия растяжению и содержанием в гладких мышцах актомиозина. Скорее наоборот, чем ниже содержание белков актомиозинового комплекса в мышечном органе, тем больше оснований ожидать у него выраженной способности к тонической (запирательной) функции и наоборот.

Эти данные говорят о том, что в основе фазной и тонической (запирательной) деятельности лежат изменения физического состояния различных белковых субстратов.

Развитие тонуса гладкой запирательной мускулатурой сопровождается и иным, чем при фазной деятельности изменением электрических параметров (Н. А. Аладжалова, 1950).

Другие биофизические данные, полученные главным образом в лаборатории Г. М. Франка (1956, 1959), также говорят о существовании различных механизмов (на молекулярном уровне) фазной и тонической (запирательной) деятельности. В отличие от других авторов, мы только полагаем, что в настоящее время можно говорить не о различных механизмах быстрого и медленного (тонического) сокращения, но о различных механизмах сокращения и неутомляемого противодействия растяжению (вязкого последействия, запирательной функции). Но поскольку белковые субстраты сокращения и «вязкого последействия» в миофибриллах теснейшим образом связаны между собой, сокращение и тоническое напряжение, функцию гладкой мускулатуры трудно рассматривать как независимо протекающие процессы.

Выраженное своеобразие фракционного состава белков гладкой тонической мускулатуры по сравнению с поперечнополосатой, в частности, наличие в гладких мышцах меньшего

количества белков актомиозинового комплекса, было подтверждено и показано рядом авторов (И. И. Иванов и Е. Г. Киселева, 1948; Дюбюиссон — Dubuisson, 1950; Крепакс — Crepax, 1951, 1952; Чапо — Csapo, 1950; И. И. Иванов и В. Д. Блохина, 1955; Нидэм и Коукуэл, 1957; и др.). Эти исследования давали возможность с полной определенностью связывать более слабую сократительную способность гладкой мускулатуры с относительно низким содержанием в ней актомиозина. Однако вопрос о природе белкового субстрата тонического напряжения или вязкого последействия оставался и после опубликования этих работ совершенно неясным. Изучение этой проблемы особенно затруднялось тем обстоятельством, что развитие мышечного тонуса, в отличие от акта сокращения, в настоящее время еще не удается воспроизводить на упрощенных модельных системах, например на отмытых 50%-ным глицерином мышечных волокнах.

Тем не менее, известное представление о природе белков, при участии которых осуществляется эта тоническая или запирательная функция мышц, можно все же составить на основании детального изучения и сравнения фракционного состава белков мышц различных типов, приспособленных к осуществлению с одной стороны, быстрых фазных движений, с другой — к развитию неутомляемого тонуса (тонического противодействия растяжению).

Как было установлено (И. И. Иванов и сотр., 1959), фракционный состав белков различных типов мускулатуры — скелетной, сердечной, мышцы желудка и матки имеет существенные отличия. В той или иной степени эти отличия касаются всех основных групп белков — миофибриллярных, саркоплазматических и белков стромы.

С интересующей нас точки зрения наибольшее значение имеют данные о фракционном составе миофибриллярных белков, извлекаемых из мышечной ткани солевыми растворами с высокой ионной силой, после предварительной исчерпывающей экстракции легкорастворимых саркоплазматических белков. Общее содержание миофибриллярных белков наиболее высоко в скелетной мускулатуре, в которой на долю азота этих белков приходится около 50% общего азота или 57% белкового азота мышцы. В мышце сердца и желудка эти величины в два раза ниже, а в мышце матки на долю азота миофибриллярных белков приходится только 16,7% общего азота ткани или соответственно 18% белкового азота (И. И. Иванов и сотр., 1959). При диализе против дистиллированной воды или при сильном разбавлении водой веберовского экстракта, содержащего все экстрагируемые миофибриллярные белки, их можно разделить на две группы: 1) белки, растворимые в солевых средах с высокой ионной силой, выпадающие в этих условиях в осадок, и 2) белки, растворимые при низкой ионной силе, находящиеся в над-

осадочной жидкости. Последнюю группу белков И. И. Иванов и сотрудники называют фракцией Т. Следует напомнить, что к числу белков этой фракции относятся тропомиозин и новые белки, свойства которых были недавно описаны рядом авторов (Джонсон, Кан и Сент-Дьердьи — Johnson, Kahn u. Szent-Györgyi, 1959; Амберсон и сотр., 1956; Цао и сотр.— Tsao a. oth., 1956, 1958; Хансон и Хаксли, 1955, 1957; Виллафранка — Villafranca, 1956; и др.). Шенг и Цао (Sheng u. Tsao, 1955) недавно высказали предположение, ссылаясь на работу И. И. Иванова (1950 а и б), что в осуществлении запирательной функции гладкой мускулатуры важную роль может играть тропомиозин. Содержание этого белка в запирательной мускулатуре моллюсков действительно доходит до 30% от общего количества мышечных белков (см. гл. V).

Необходимо подчеркнуть, что в опытах И. И. Иванова и сотр. (1959) гомогенаты мышечной ткани полностью освобождались от саркоплазматических белков и только после этого проводилась экстракция миофибриллярных белков веберовским раствором. Следовательно, фракция *Т* действительно представляет собой растворимые при низкой ионной силе миофибриллярные белки, по-видимому, связанные в живой мышце (в миофибриллах) с белками актомиозиновой группы. Этот своеобразный комплекс распадается на свои компоненты при диализе или при сильном разбавлении солевого раствора дистиллированной водой. По процентному содержанию белков актомиозинового комплекса (АМ) различные типы мышц весьма сильно отличаются друг от друга. Если в скелетной мускулатуре азот этих белков (АМ) составляет около 40% от общего азота мышечной ткани или около 45% от белкового азота, то в сердечной мышце на его долю приходится соответственно около 17,0 и 18,6% (в мускулатуре желудка 11,3 и 12,1% и в миометрии 4,2 и 4,6%). Следовательно, содержание нерастворимых при низкой ионной силе миофибриллярных белков, т. е. белков актомиозинового комплекса (АМ), в мышце матки почти в 10 раз ниже, чем в скелетной мускулатуре.[1] Если учесть, что в состав актомиозина гладких мышц входят и нуклеопротеиды, которые извлекаются из мышечной кашицы и затем выпадают при диализе в осадок вместе с актомиозином, а также, по-видимому, водонерастворимая форма тропомиозина, то истинное содержание миозина и актомиозина в гладкой мускулатуре, по-видимому, должно быть еще ниже.

Процентное содержание белков фракции *Т*, считая на общий азот или белок всей ткани, примерно одинаково во всех типах

---

[1] Здесь необходимо, однако, напомнить, что в мышцах, особенно в гладкой мускулатуре, часть ткани приходится на соединительнотканные элементы; мышечный слой стенки матки — миометрий — состоит, например, из сплетения гладких мышечных волокон с большим количеством сосудов.

мускулатуры. Однако процентное содержание белков фракции *T*, считая на экстрагируемый азот или белок миофибрилл, т. е. другими словами, соотношение между содержанием белков актомиозинового комплекса и миофибриллярных белков, растворимых в солевых средах с низкой ионной силой, не одинаково для различных мышц и представляет для каждого типа мышц весьма характерную величину. Так, для скелетной мускулатуры это соотношение АМ/Т равно приблизительно 3,5/1, для сердечной мышцы 1,5 : 1, для мускулатуры желудка 1 : 1,5 и для

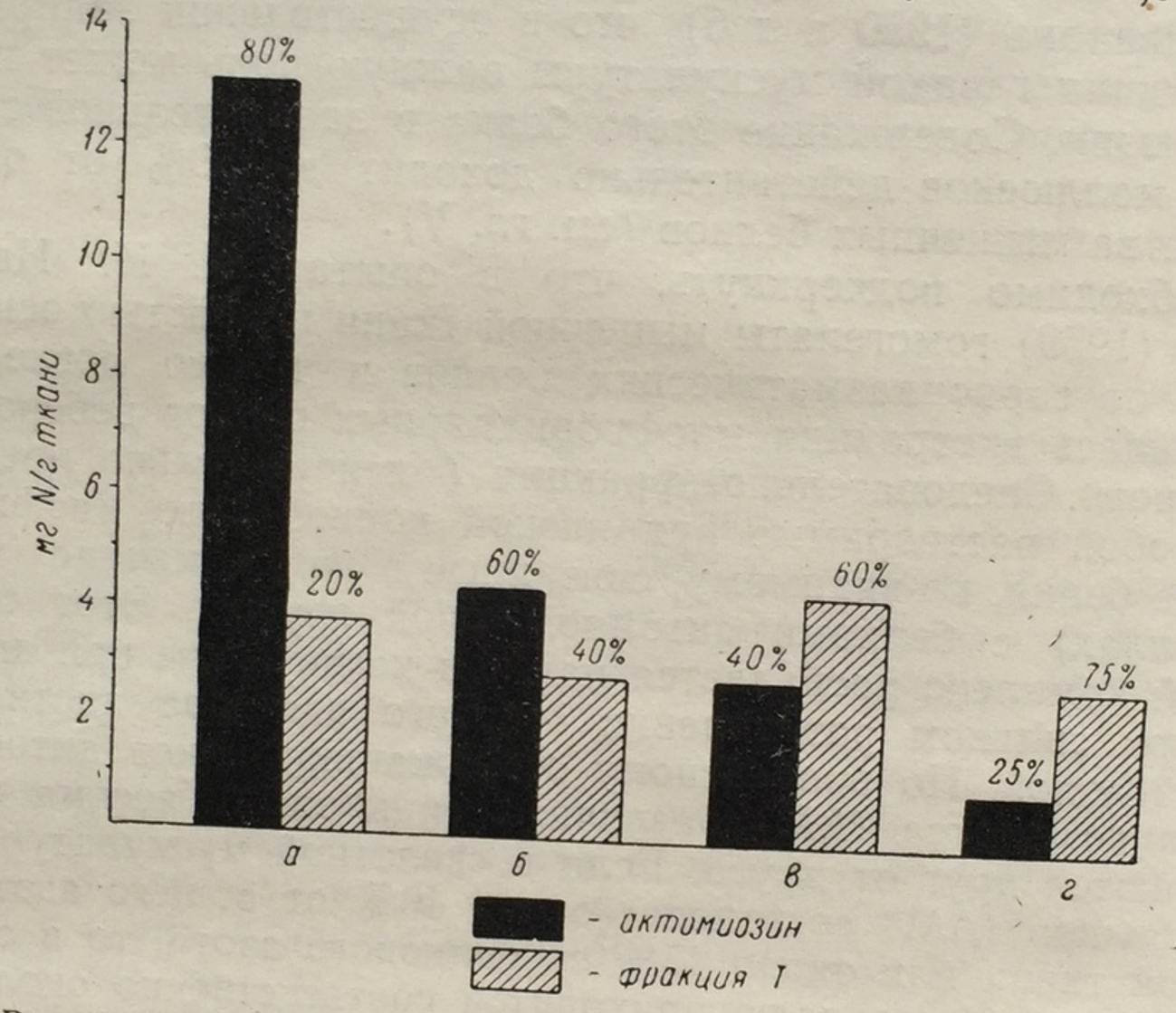


Рис. 6. Фракционный состав миофибриллярных белков мышц различных типов.

а — скелетная мышца; *б* — сердце; *в* — желудок; *г* — матка.

мышцы матки 1 : 3 (рис. 6). Другими словами, извлекаемые 0,6 М KCl белки миофибрилл скелетных мышц на 80% состоят из актомиозина и на 20% из белков, растворимых в солевых средах с низкой ионной силой (фракция *T*); в экстрактах с высокой ионной силой из миофибрилл сердечной мышцы содержится 60% актомиозина и около 40% белков фракции *T* и, наконец, в экстрагируемых белках миофибрилл гладкой мускулатуры желудка и матки содержание «актомиозина»[1] не превышает соответственно 40—25%, тогда как содержание белков

[1] Не следует также забывать, что в «актомиозиновой» фракции гладкой тонической мускулатуры на долю актомиозина приходится лишь часть белка. Другая часть этой фракции несомненно представлена нуклеопротеидами и, возможно, другими белками.

фракции *Т* доходит до 60—75%. Эти цифры отражают в очень рельефной форме своеобразие в фракционном составе миофибриллярных белков в различных типах мускулатуры: в скелетной, приспособленной главным образом к быстрой фазной деятельности, в сердечной и, наконец, в гладкой мускулатуре мезенхимного происхождения, для которой характерна способность к замедленному сокращению и расслаблению, переходящему в ряде случаев в запирательное действие.

Таким образом, выявляется четкий параллелизм между способностью мышцы к тому или иному типу физиологической деятельности и фракционным составом белков, являющихся интег-

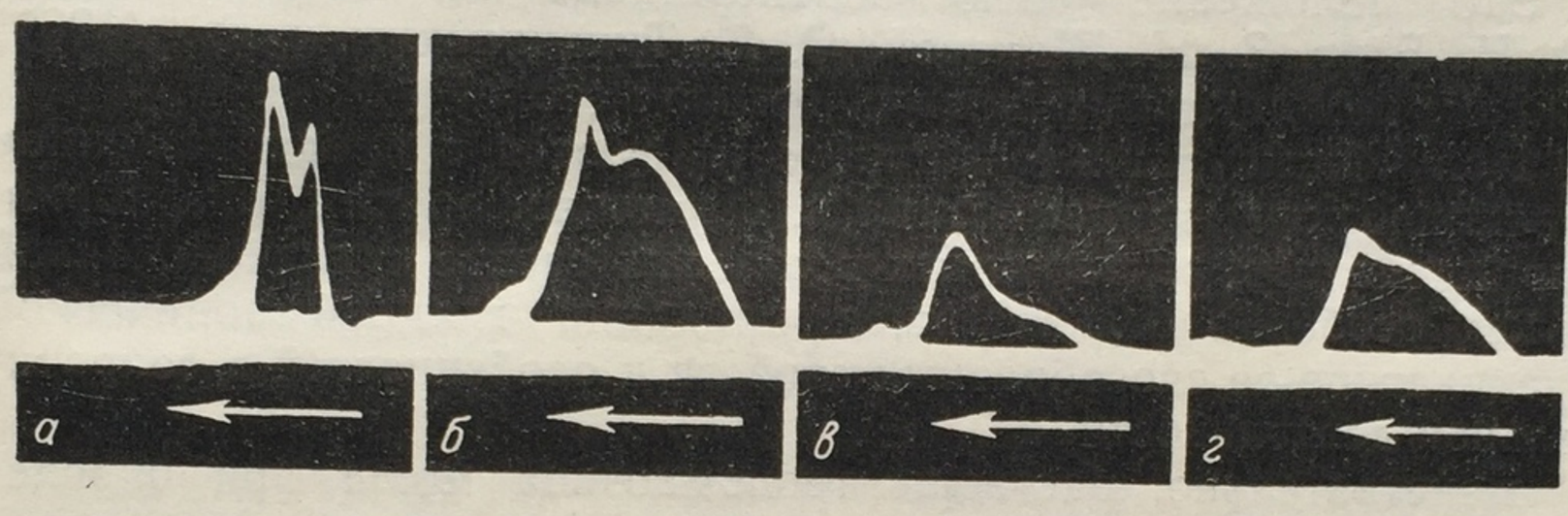


Рис. 7. Электрофореграммы белков фракции Т.
а — скелетная мышца; *б* — сердце; *в* — желудок; *г* — матка.

ральными составными частями наиболее важных в функциональном отношении структур мышц — миофибрилл. Этот параллелизм не может быть случайным и заставляет при изучении природы белкового субстрата мышечного тонуса обратить особое внимание на растворимые при низкой ионной силе белки миофибрилл, т. е. на фракцию *Т*.

Белки этой фракции были изучены И. И. Ивановым и сотрудниками (1959) с помощью электрофоретического метода. В согласии с литературными данными (Сент-Дьердьи и сотр., 1955; Амберсон и сотр., 1956; Цао, 1956) установлено, что фракция *Т* скелетной мускулатуры не является гомогенной. В ней присутствует незначительное количество какого-то белка с высокой электрофоретической подвижностью, вероятно, миоальбумина. Основная же масса белка при электрофорезе разделяется на две части, из которых одна (меньшая) является тропомиозином, а вторая, по-видимому, представляет собой белок Цао (рис. 7).

Кроме того, в состав фракции *Т* входит значительное количество каких-то крайне легко подвергающихся спонтанной денатурации миофибриллярных белков, по-видимому, близких по своим свойствам к глобулинам X Вебера. Подробнее этот вопрос рассматривается в гл. V.

Перри и Зидово (Perry a. Zydowo, 1959) также нашли, что

в состав «экстрапротеина» скелетных мышц входит не более 20% тропомиозина. Около 30% белкового азота экстрапротеина, по их данным, приходится на долю белка, обладающего альдолазной активностью; 20% падает на нерастворимые в воде белки, напоминающие Y-протеин Дюбюиссона.

Фракция *T* сердечной мышцы, мускулатуры желудка и матки, по данным И. И. Иванова и сотр., также представляет собой гетерогенную систему, в которой электрофоретически можно установить наличие по крайней мере двух-трех основных подфракций: водорастворимого миофибриллярного белка Цао, тропомиозина и одного быстродвижущегося компонента.

Это положение было подтверждено И. И. Ивановым, Ю. Н. Берг, З. Н. Жаховой, С. Е. Тукачинским и др. (1961) также с помощью иммунохимического метода.

Полученные данные вполне согласуются с предположением о важной роли, тропомиозина и, возможно, других миофибриллярных белков, растворимых в солевых средах с низкой ионной силой, особенно белка Цао, в придании гладкой тонической мускулатуре ее своеобразных свойств и особенностей в сократительной деятельности.

Действительно, растворы тропомиозина могут при определенных условиях существовать в форме как хорошо подвижных золей, так и чрезвычайно вязких мало подвижных гелей (см. гл. V). По Рюег (Rüegg, 1958), тропомиозин, выделенный из мышц беспозвоночных (Gryphaea angulata и Pinna nobilis), почти нерастворим в воде при pH 7 или 8 и ионной силе 0,15, но его растворимость резко возрастает в присутствии 0,005 М АТФ. АТФ адсорбируется на частицах белка, но не подвергается расщеплению, так как тропомиозин АТФ-азной активностью не обладает.

Можно, таким образом, думать, что повышение вязкости белков мышечного волокна при развитии запирательного действия связано с превращением тропомиозина или каких-то его комплексов с другими белками в гелеобразное состояние в результате десорбции с частиц этого белка АТФ и ионов солей. Это предположение находится в хорошем соответствии с цитированными выше данными Н. А. Аладжаловой и С. Н. Мерцаловой (1954).

Поскольку осуществление тонической (запирательной) функции не сопровождается существенным повышением энергетического обмена и очевидно связано с изменением физического состояния белков, не идентичных актомиозину (хотя и тесно связанных с ним), следует ожидать, что миофибриллярные белки гладкой тонической мускулатуры должны обладать значительно меньшей АТФ-азной активностью, чем миозин скелетных мышц. Особенно низкой должна быть АТФ-азная активность тех фракций мышечных белков, изменение физического состояния которых может иметь непосредственное отношение к развитию не-

утомляемого тонуса, т. е. с нашей точки зрения, белков фракции Т. Вместе с тем эти белки могли бы быть носителем холинэстеразной активности в соответствии с взглядами и данными А. Г. Гинецинского (1947), Варга и сотр. (Varga, 1955).

Из исследований, проведенных в лаборатории И. И. Иванова (см. И. И. Иванов, 1959а), и литературных данных (М. Н. Любимова, 1957) известно, что белки, экстрагируемые раствором Вебера из гладкой тонической мускулатуры, действительно обладают значительно (в 10—20 раз) меньшей АТФазной активностью, чем миозин скелетных мышц. В работе И. И. Иванова и З. Н. Жаховой (1959) было установлено, что особенно низкой, практически нулевой, АТФ-азной активностью отличаются белки фракции *Т* скелетной мускулатуры. Крайне низка также АТФ-азная активность фракции *Т* мышц желудка, сердца и матки.

С другой стороны, холинэстеразная активность белков фракции Т достаточно выражена.

Наиболее высокой холинэстеразной активностью отличаются белки фракции *Т* матки и в несколько меньшей степени — желудка.

Все эти данные также вполне согласуются с предположением о важной роли миофибриллярных белков, растворимых в солевых средах с низкой ионной силой (фракция *Т*), в осуществлении тонической, в частности, запирательной функции мышц.

Положение о неидентичности белкового субстрата тонической (запирательной) функции мышц актомиозину нашло себе в самое последнее время подтверждение в работах ряда зарубежных авторов. Так, по данным Джонсон, Кан и Сент-Дьердьи (1959), запирательная функция гладких мышц беспозвоночных обеспечивается изменением физического состояния белка, называемого парамиозином (Холл, Джекус и Шмитт — Holl, Jakus, Schmitt, 1946). Рюег (1959), а также Хансон, Лоуи, Хаксли, Бэйли, Кей и Рюег (Hanson, Lowy, Huxley, Bailey, Kay, Rüegg, 1957) считают, что субстратом тонического напряжения гладкой запирательной мускулатуры моллюсков является водонерастворимый тропомиозин, который, по их данным, идентичен парамиозину.

Идентичность парамиозина водонерастворимому тропомиозину Бэйли была, по-видимому, окончательно установлена в работе Кей и Бэйли (Kay a. Bailey, 1959).

Особенно важно, что по данным Рюега в гладкой мускулатуре беспозвоночных имеется два типа волокон. Одни из них богаты водонерастворимым тропомиозином и обнаруживают резко выраженную способность к сопротивлению растяжению и слабо выраженную сократительную функцию.

В бедных тропомиозином волокнах эта разница между способностью к активному сокращению и сопротивлению растяжению выражена в значительно меньшей степени.

Эти данные полностью соответствуют данным, полученным ранее в нашей лаборатории (см. А. В. Стрелина, И. И. Иванов, Е. Г. Жуков, 1957).

Названными авторами в опытах на поперечнополосатых мышцах лягушки, а также на запирательных мышцах моллюсков было показано существование прямой зависимости между характером сокращения одиночного мышечного волокна при раздражении его электрическим током и степенью сокращения отмытого волокна при взаимодействии его с АТФ.

Опыты проводились на одиночных мышечных волокнах, выделенных из тонических и нетонических пучков musc. ileofibularis лягушки. Одиночное мышечное волокно подвергалось раздражению индукционным током в специальной камере, и характер сокращения регистрировался на движущейся кинопленке.

После оценки характера сокращения то же самое волокно подвергалось отмыванию в бидистиллированной воде, после чего определялась степень его сокращения в присутствии АТФ.

По отношению к АТФ мышечные волокна оказалось возможным разделить на три группы.

Волокна первой группы, сокращающиеся при воздействии АТФ более чем на 40% и содержащие, очевидно, большое количество актомиозина, по типу физиологического сокращения соответствуют тетаническим волокнам. Вторая группа волокон, более слабо реагирующих с АТФ (сокращение на 20—40%), соответствует смешанным или переходным волокнам. Наконец, к третьей группе принадлежат волокна, весьма слабо сокращающиеся в присутствии АТФ; эти волокна при раздражении их индукционным током обнаруживают тонический тип сокращения.

Авторами было установлено, что в так называемых тонических пучках поперечнополосатых мышц лягушки и запирательных мускулах моллюсков присутствуют волокна всех трех типов. Особенно велико содержание в них переходных волокон. Однако, процент так называемых чисто тонических волокон, слабо сокращающихся при взаимодействии с АТФ и, очевидно, содержащих незначительное количество актомиозина, в этих пучках значительно выше, чем в тетанических участках. Тетанические участки мышц характеризуются, напротив, очень большим количеством волокон, дающих хорошо выраженную сократительную реакцию с АТФ, обусловленную высоким содержанием актомиозина.

Таким образом в опытах А. В. Стрелиной, И. И. Иванова и Е. К. Жукова нашло себе подтверждение положение, согласно которому тип сократительной реакции мышечного волокна определяется прежде всего характером входящих в их состав белковых субстратов сокращения и неутомляемого тонуса.

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ

Сердечная мышца (миокард) занимает особое место среди других видов мускулатуры. Хотя миофибриллы ее волокон обладают, подобно миофибриллам скелетных мышц, поперечной исчерченностью, однако в то же время сердечная мышца отличается от скелетной мускулатуры рядом особенностей. Прежде всего, мышечные волокна миокарда значительно богаче, чем волокна соматических скелетных мышц саркоплазмой. Это может быть обнаружено не только при микроскопическом исследовании препаратов сердечной мышцы, но и путем биохимического анализа мышечных белков.

Если в скелетной мышце (кролика) на долю азота белков саркоплазмы, растворимых в солевых средах с низкой ионной силой, приходится, по данным И. И. Иванова, З. Н. Жаховой и др. (1959), около 28% общего азота ткани (или около 32% белкового азота), то в сердечной мышце азот белков саркоплазмы составляет не менее 34% общего азота ткани или 37,5% (иногда до 40%) белкового азота мышцы.

Кроме того, имеются существенные отличия и в составе миофибриллярных белков миокарда и скелетных мышц. В последних на долю азота миофибриллярных белков, растворимых в солевых средах с высокой ионной силой, приходится около 44,6% общего белкового азота ткани, тогда как на долю миофибриллярных белков, растворимых в солевых средах с низкой ионной силой падает около 12,7%; в миокарде же содержание этих белковых веществ выражается соответственно цифрами: 18,6% и 12,4%. Таким образом, отношение:

$$\frac{\text{белки, растворимые в солевых средах с высокой ионной силой } (AM)}{\text{белки, растворимые в солевых средах с низкой ионной силой } (T)}$$

для случая миофибрилл скелетных мышц равно 3,5 : 1; для миокарда

$$\frac{AM}{T} = 1{,}5 : 1$$

К этому можно добавить, что общее содержание азота в сердечной мышце (25 мг/г свежей ткани) несколько ниже, чем в скелетной мускулатуре. В сердечной мышце на долю белкового азота приходится около 23,5 мг/г; в скелетной мышце — 30—35 мг/г ткани.

Все это находится в полном соответствии с функциональными особенностями сердечной мышцы, приспособленной к выполнению сильных, но не очень быстрых сокращений и способной к непрерывной деятельности с небольшими паузами в течение всей жизни.

Нельзя не упомянуть и о своеобразии тонкого микроскопического строения волокон сердечной мышцы. Мышечные волокна

миокарда, связанные между собой протоплазматическими мостиками, образуют как известно, сетевидный симпласт. По-видимому, в связи с этими особенностями строения сердечная мышца и реагирует весьма своеобразно на любые раздражения. Если раздражение может вызвать в отдельных участках миокарда местную волну сокращения, то начавшееся возбуждение переходит по протоплазматическим перемычкам между мышечными волокнами на все сердце

Имеются и другие особенности в строении миофибрилл миокарда (сарколемма их, например, развита слабо, ядра занимают центральное положение и т. д.), которые подробно описываются в курсах гистологии. Мышечная ткань сердца развивается из миоэпикардиальной пластинки спланхнотомов.

Особый интерес представляет вопрос о существовании в сердечной мышце так называемой проводящей системы. Этим термином называют особые тесно связанные между собой мышечные волокна, обнаруживаемые в составе миокарда. Волокна, входящие в состав проводящей системы, в большинстве случаев очень богаты сарколеммой и содержат лишь относительно немного неправильно расположенных переплетающихся миофибриллей. Из такого рода волокон и состоят узлы и пучки проводящей системы (узел Кейт — Флака, атриовентрикулярный узел Товара, пучок Гиса, волокна Пуркинье).

Как известно, миокард предсердий соединяется с миокардом желудочков в одно целое посредством пучка Гиса.

У теплокровных ритмические импульсы возбуждения возникают в узле Кейт-Флака, откуда волна возбуждения распространяется на предсердие, доходит до атриовентрикулярного узла Товара, а затем по пучкам Гиса достигает желудочка.

Повреждение отдельных элементов проводящей системы сердца вызывает резкое нарушение деятельности и ритма сокращений желудочков и предсердий.

Необходимо подчеркнуть следующее важное положение. Как отмечают А. А. Заварзин и С. И. Щелкунов (1954), проводящая система сердца получила свое название вследствие предположения, что по ней передаются импульсы, которые координируют сокращение отдельных частей сердца, и что благодаря ее присутствию сердце и обнаруживает свою функциональную целостность. Однако как раз по ходу пучков проводящей системы идут и многочисленные нервные волокна. Поэтому анатомически вопрос о миогенной или неврогенной природе координации сердечных сокращений остается пока не вполне решенным.

Все же следует иметь в виду, что сердечная мышца уже на эмбриональной стадии развития, когда еще нельзя говорить о какой-либо нервной регуляции сердечной деятельности, обладает способностью к автоматической пульсации, причем каждый отдел имеет свой собственный внутренний ритм сокращений. Можно, таким образом, полагать, что ключ к пониманию проис-

хождения автоматической деятельности сердца, так же как и автоматического движения ресничек, жгутиков и других клеточных органелл движения, нужно искать в свойствах самих контрактильных белков (см. гл. VII).

На глицериновых моделях сердечной мышцы (сердце лягушки, мацерированное в 50%-ном глицерине) было показано, что сокращение желудочков и предсердий возникает вследствие взаимодействия контрактильных белков актомиозинового комплекса с АТФ. Однако воспроизвести ритмическую деятельность «глицериновых моделей» сердца теплокровных или даже сердца лягушки, не имеющего коронарной системы, путем пропускания через мацерированное в 50%-ном глицерине сердце раствора АТФ до сих пор не удалось.

В литературе имеются лишь нуждающиеся в проверке и дальнейшем развитии указания на возможность возобновления в присутствии АТФ и ионов Mg ритмической деятельности миофибрилл сердечной мышцы голубя (Браун, Аразимавициус, Эбботт, Хасс — Brown, Arasimavicius, Abbott, Hass, 1955).

Биоэлектрическая активность при возбуждении мышцы

Большой и теоретический, и практический интерес представляет вопрос об электрической активности мышц различных типов.

Как известно, биоэлектрический ток возбуждения появляется в мышце в результате возникновения разности потенциалов между участками мышцы, находящимися в состоянии покоя и в зоне возбуждения. Эту разность потенциалов можно легко обнаружить с помощью гальванометра или безинерционного осциллографа, если соединить проводником первого рода через неполяризующиеся электроды возбужденный участок с любым другим невозбужденным участком мышцы. При возникновении возбуждения во внешней цепи появляется электрический ток, длящийся в течение нескольких десятитысячных долей секунды и имеющий двухфазный характер. В основе этого явления, по общепринятым в настоящее время представлениям, лежит та же закономерность, с которой связано появление электродвижущей силы в концентрационном элементе (см. Д. Н. Насонов и В. Я. Александров, 1940)

При действии раздражения, интенсивность которого превосходит пороговую величину, местный процесс, выражающийся в появлении зоны отрицательного потенциала, переходит в распространяющуюся вдоль мышечного волокна волну электроотрицательности, скорость движения которой равняется нескольким десяткам метров в секунду. Эта волна электроотрицательности и называется током возбуждения.

Ток возбуждения, вызванный тем или иным раздражением, обычно прекращается до начала сокращения мышц (мышечного волокна). При определенных

условиях раздражения ослабление механического эффекта (сокращения) и электрического эффекта (тока возбуждения) протекает отнюдь не параллельно. Таким образом, электрический ток возбуждения (волна возбуждения) предшествует в живой мышце сокращению и, по-видимому, является его причиной (И. С. Беритов, 1959).

Несомненно, что в обычных условиях сокращение следует за волной возбуждения; сокращается тот участок миофибриллы, которого достигла волна возбуждения; сокращение, начавшееся в данном участке миофибриллы, само, т. е. без участия электрической волны возбуждения, не переходит на другие участки (И. С. Беритов, 1947).

С этой точки зрения большой интерес представляет вопрос о возможности проведения возбуждения и возникновения разности потенциалов при сокращении мацерированных мышечных волокон (глицериновых мышечных моделей) под влиянием АТФ.

Все имеющиеся в этом отношении данные говорят за то, что мацерированные мышечные волокна сокращаются в присутствии АТФ и ионов Mg только в результате непосредственного взаимодействия контрактильного белка миофибрилл с АТФ. Никакой проводимостью эти волокна, следовательно, не обладают. В мацерированном волокне сохраняется контрактильный белок, но отсутствует дающий энергию субстрат (АТФ), без которого никакого сократительного процесса в глицериновых моделях возникнуть, очевидно, не может.

В связи со сказанным должно быть вполне понятно и отсутствие при сокращении глицериновых моделей тока возбуждения, подобного электрической волне возбуждения, пробегающей вдоль живого мышечного волокна перед началом сократительного акта. Это, впрочем, не исключает возможности возникновения на определенных участках сокращающегося в присутствии АТФ мацерированного мышечного волокна некоторой разности потенциалов, в результате тех или иных химических реакций, изменения концентрации солей (ионов) и т. п. Однако физиологического значения эти явления, очевидно, иметь не могут и их едва ли следует в какой-либо степени уподоблять токам возбуждения, возникающим при раздражении живых мышечных волокон.

Что касается токов возбуждения сердечной мышцы, то они возникают и распространяются по миокарду по сравнению с токами возбуждения скелетной мышцы значительно реже и медленнее. Так как электрические волны возбуждения, возникающие в различных участках работающей сердечной мышцы, распространяются по миокарду в определенной последовательности, то электрическую активность сердца можно снимать, отводя эти токи в гальванометр через руки и ноги человека, находящегося в состоянии покоя.

Как известно, электрокардиография широко используется в клинике для суждения о функциональном состоянии сердечной мышцы. В частности, электрокардиография является одним из основных методов диагностики инфаркта миокарда и некоторых других заболеваний сердца.

ГЛАВА II

НЕКОТОРЫЕ ДАННЫЕ ИЗ ИСТОРИИ РАЗВИТИЯ МЫШЕЧНОЙ БИОХИМИИ

ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ СУБСТРАТЫ МЫШЕЧНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

Классическим объектом, на котором исследовался химизм сократительных процессов, всегда была скелетная (главным образом икроножная) и отчасти сердечная мышца (лягушки).

Именно при изучении поперечнополосатой быстро сокращающейся мышцы были получены все основные факты, лежащие в основе современных представлений о мышечной деятельности. Как известно, в состоянии покоя обмен веществ в мышечной ткани протекает на сравнительно низком уровне. Однако теплообразование в мышце резко возрастает при ее сокращении. Окислительный обмен при работе мышцы может усиливаться примерно в 100 раз, а интенсивность анаэробного гликолиза почти в 1000 раз. Все это делает мышечную ткань исключительно интересным и удобным объектом для изучения механизма превращения энергии химических процессов в механическую работу.

Медленно сокращающиеся гладкие мускулы долгое время оставались вне поля зрения большинства исследователей.

Действительно гладкая мышца в противоположность поперечнополосатой является мало подходящим объектом для исследования химической природы процессов, обеспечивающих мышцу энергией при двухфазной работе; в то же время она должна быть признана исключительно ценным объектом для изучения механизма развития пластического тонуса, «запирательной» функции или вязкого противодействия растяжению.

Существование определенной связи между интенсивностью мышечной работы и величиной дыхательного газообмена было известно в общих чертах уже основоположникам современной физиологии.

Значительное число исследований в этот ранний период было также посвящено выяснению химической природы субстратов, используемых в мышце во время работы в качестве горючего материала. Либиг (Liebig, 1846 — цит. по F. Lieben, 1935), исходя из химического состава мышцы и считая, что мышца работает за счет потребления собственных эндогенных энергетических ресурсов, высказал предположение об окислении в мышце при сокращении прежде всего белковых веществ. Этот взгляд был, однако, вскоре опровергнут Вислиценусом и Фиком (Wislicenus u Fick, 1865), показавшими, что разрушение белка, о котором можно было судить по количеству выделяемого с мочой азота (главным образом в виде мочевины), совершенно не соответствует величине выполняемой работы. Несмотря на наличие некоторых методических ошибок в описанных опытах, подопытные субъекты (сами авторы работы), совершившие

восхождение на одну из вершин швейцарских Альп, не находились в состоянии азотистого равновесия, можно считать несомненным, что положение Либига о возможности покрытия всех энергетических потребностей мышцы за счет окисления белков не нашло подтверждения в этом опыте. Напротив, из наблюдений Фика и Вислиценуса вытекало, что основным горючим материалом при работе мышцы являются безазотистые вещества, т. е. углеводы или жиры; выделение же азота с мочой свидетельствует лишь о постоянном изнашивании белков тканей в известной мере независимо от мышечной нагрузки.

Дальнейшие многочисленные исследования других авторов, с одной стороны, полностью подтвердили данные Фика и Вислиценуса, с другой стороны, однако, установили возможность использования при изнурительной работе в качестве горючего материала не только углеводов, но также липидов и протеинов [1].

Так, например, у лошади при усиленной работе и недостатке углеводов в пище наблюдалось увеличенное против нормы выделение азота с мочой. Позднее это наблюдение было подтверждено Нейшлоссом (Neuschloss, 1935).

Следует, однако, подчеркнуть, что выделение повышенного количества азота с мочой при усиленной мышечной работе может быть следствием дезаминирования продуктов распада белка-аминокислот не в самих мышцах, но в других органах, например в печени. В мышечной же ткани дезаминированию при работе подвергаются, как мы теперь знаем, не аминокислоты, а совершенно другие азотистые соединения.

Результаты опытов и наблюдений, устанавливающих возможность сжигания при мышечной деятельности веществ неуглеводной природы, в частности липидов, трактовались, однако, долгое время неправильно. Предполагалось, например, что липиды используются в качестве горючего материала не непосредственно, а косвенным путем после превращения их в гликоген или виноградный сахар. Эта точка зрения получила особенно широкое распространение в 30-х годах текущего столетия, главным образом, благодаря работам Мейергофа (Meyerhof, 1920, 1931) и Хилла и Хартри (Hill a. Hartree, 1920, 1921, 1922), считавших, что сокращение мышечного волокна вызывается образованием в мышце молочной кислоты в результате анаэробного расщепления углевода (гликогена или глюкозы).

Научный авторитет названных авторов был настолько высок, что большинство биохимиков и физиологов долгое время просто игнорировали или неправильно истолковывали ряд фактов, указывающих на возможность использования при мышечной работе не только углеводов, но также и других питательных веществ. Без достаточного внимания оставались, например, работы физиологов (Кларк и сотр.— Clark a. oth., 1931, 1932;

[1] Пфлюгер, например, показал, что собака, получавшая в течение 7 месяцев исключительно белковую пищу (мясо, освобожденное от жира и гликогена), полностью сохраняла способность к интенсивной мышечной работе. (Цит. по F. Lieben, 1935).

Ивенс — Evans, 1914; и др.), показавших, что in vitro мышца работает за счет энергии окисления гликогена обычно лишь в течение первого периода опыта. В дальнейшем же, т. е. по исчерпании запасов гликогена, работоспособность мышцы обеспечивается уже главным образом за счет окисления иных субстратов. Последний вывод был сделан на основании определения дыхательного коэффициента мышц лягушки и теплокровных в различных условиях. Так, например, дыхательный коэффициент мышцы (изолированного сердца лягушки) в рингеровском растворе, приближавшийся в начале опыта к единице, с течением времени постепенно снижался и, в конце концов, доходил до величины 0,73—0,87 (по данным Кларка), что соответствует окислению не углеводов, но жиров или протеинов[1]. На сердечно-легочном препарате теплокровных было также показано, что при нормальном содержании сахара в крови дыхательный коэффициент изолированного сердца близок к единице. Количество исчезающего сахара при этом соответствует количеству потребляемого кислорода. Однако при гипогликемии или после исчерпания запасов углеводов как в крови, так и в самом сердце наблюдается постепенное падение дыхательного коэффициента *RQ* (с 1,007 в течение первого часа до 0,96 в течение второго и 0,775 в течение третьего).

Дыхательный коэффициент работающей скелетной мышцы, вырезанной у нормально питавшегося животного, также приближается к единице; но значение его падает до $0{,}78 \pm 0{,}6$, если мышца получена от голодающего истощенного животного (Ломан — Lohmann, 1936).

Аналогичные данные были получены в опытах на целом животном и на людях (подробнее см. В. А. Белицер, 1940). Определенный интерес в этом отношении представляет также работа Ю. М. Гефтер и В. М. Кирьян (1937). Эти авторы показали, что у кроликов под влиянием бега в колесе повышается содержание в крови аминоазота и остаточного азота.

В покоящейся мышце, как показывает величина дыхательного коэффициента, также происходит сгорание не одних только углеводов.

---

[1] Напомним, что при сгорании углеводов, протекающем по уравнению: $C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O$, объем поглощаемого кислорода равен объему образующегося углекислого газа и, следовательно, *RQ* (или отношение объема выдыхаемой углекислоты к объему вдыхаемого кислорода) равняется единице. При окислении же других субстратов кислорода всегда потребляется больше, чем выделяется углекислоты, и в соответствии с этим *RQ* оказывается ниже единицы. Впрочем, получаемые таким путем данные могут быть использованы лишь с известной осторожностью, поскольку часть углекислоты всегда образуется за счет вытеснения некоторого ее количества кислыми продуктами обмена из бикарбонатов плазмы крови или тканевой жидкости. Следует также учитывать, что даже в тканях теплокровных животных возможно исчезновение небольшого количества углекислоты в результате ее использования в некоторых реакциях синтетического характера.

Представление о возможности выполнения мышечной работы за счет энергии окисления неуглеводных веществ получило окончательное признание лишь в недавнее время. К этому выводу, в конце концов, склонился и Мейергоф (1931), установивший, что дыхательный коэффициент работающей мышцы, вырезанной у истощенного животного, а также мышцы, отравленной монойодуксусной кислотой, значительно ниже единицы.

Отметим также, что сердечная мышца, освобожденная от большей части гликогена (трехдневным голоданием, внутривенным впрыскиванием стрихнина), сохраняет работоспособность в течение почти такого же промежутка времени, как и сердце нормального животного. Ввиду того, что в этом случае сохранение работоспособности нельзя связывать с использованием гликогена, необходимо допустить возможность сокращения сердечной мышцы за счет энергии окисления каких-то иных, неуглеводных субстанций.

Таким образом, постепенно сложилось представление, что хотя основным энергетическим материалом мышцы и является гликоген, тем не менее, при недостатке последнего или при невозможности его использования, мышцы в состоянии выполнять значительную работу за счет энергии, освобождающейся при окислении и неуглеводных веществ.

В последнее время появились указания на возможность преимущественного использования даже и в норме в некоторых мышечных органах в качестве основного субстрата дыхания жирных кислот и других липидов (Гудалл и Хакел — Goodall a. Hackel, 1953).

По данным Андрес, Кадер и Цирлер (Andres, Cader, Ziegler, 1955), окисление углеводов в скелетных мышцах людей в количественном отношении также не играет большой роли.

Здесь можно упомянуть и о следующих более старых экспериментальных данных.

Многократно отмечалось падение содержания липоидов в работающей сердечной мышце. Нейтральные жиры как таковые не подвергаются окислению в сердечной мышце; однако ряд жирных кислот может извлекаться сердцем и мышцами из перфузируемой жидкости. Особенно энергично в сердечной и скелетных мышцах окисляются продукты неполного десмолиза жирных кислот — ацетоуксусная и β-оксимасляная кислоты. Эти вещества доставляются в мускулатуру с током крови, главным образом из печени.

Механизм окисления жирных кислот (при участии коэнзима *А*) в настоящее время расшифрован. Существующие представления на этот счет изложены в ряде обзорных статей и монографий (см., например: Б. И. Збарский, И. И. Иванов и С. Р. Мардашев, 1960; В. С. Шапот, 1954, А. Е. Браунштейн, 1958).

Интересно, что у осенних лягушек даже при предельном раздражении мышц не удалось (Нимиерко — Niemierko, 1929) обнаружить уменьшения содержания липоидов в мышечной ткани.

Наряду с этим в мышцах голодающих лягушек при тех же условиях наблюдалось заметное исчезновение жира. У летних лягушек после продолжительной работы было установлено (Бухвальд и Кори — Buchwald a. Cori, цит. по И. И. Иванову, 1950б), снижение в мускулатуре количества фосфолипидов и свободных жирных кислот.

С другой стороны, у голодающих крыс (дыхательный коэффициент — 0,71) после работы не удалось обнаружить уменьшения в мышцах фосфатидов, холестерина или жирных кислот.

Последнее обстоятельство было, однако, объяснено поступлением в мышцы липоидов из других органов с током крови.

Аэробное использование веществ неуглеводного характера (фосфатидов, особенно ацетальфосфатидов, жирных кислот и т. д.) имеет при работе сердечной мышцы значительно большее значение, чем при сокращении скелетной мышцы. По-видимому, в связи с меньшей способностью к анаэробному расщеплению углеводов сердечная мышца хуже, нежели скелетная, переносит анаэробиоз или отравление цианидами.

Что касается возможности использования при мышечном сокращении продуктов гидролиза белковой молекулы, то сколько-нибудь исчерпывающих данных по этому вопросу в литературе не имеется. При перфузии через изолированное сердце раствора Рингера с примесью аминокислот отмечалось исчезновение гликокола, аланина, лейцина. По-видимому, использование продуктов гидролиза белка в качестве энергетического материала возможно в мышце лишь после потери аминокислотами аминогрупп в результате, например, переаминирования аминокислот с теми или иными кетокислотами. Окислительное дезаминирование аминокислот в мышце не может играть роль сколько-нибудь важного энергетического процесса, поскольку этот тип дезаминирования практически не имеет места в мышечной ткани. Говорить о возможности прямого окисления неизмененных протеинов при сокращении мышцы в настоящее время также нет оснований.

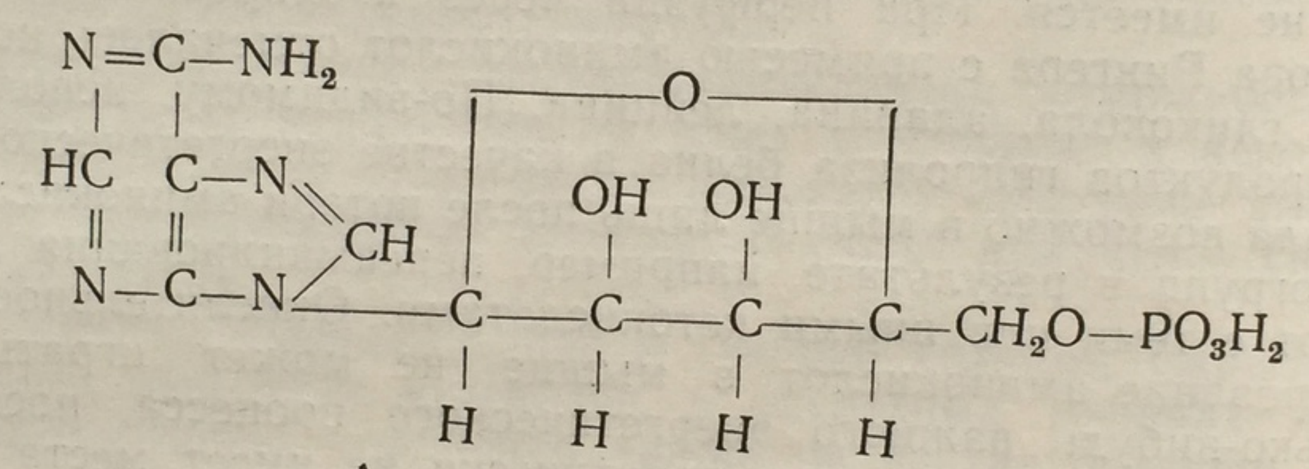
В связи с изучением процессов, связанных с распадом белка при мышечной деятельности, особый интерес приобретает вопрос об образовании в мышцах аммиака. Напомним, что окислительное дезаминирование аминокислот — продуктов расщепления белковой молекулы — происходит в ряде тканей высших животных, например в печени, почках. Этот процесс является сложной цепью реакций, среди которых помимо реакций дегидрирования, приводящих к образованию иминокислот и затем аммиака и кетокислот, важную роль могут играть и реакции переаминирования (А. Е. Браунштейн, 1958).

Образование аммиака в диафрагме крыс в растворе Рингера, насыщенном кислородом, наблюдалось Мейергофом, Ломаном и Мейером (1925). В анаэробных же условиях или при отравлении цианидами образование аммиака сильно тормозилось. Однако в дальнейшем было установлено, что этот путь образования аммиака в мышце практического значения не

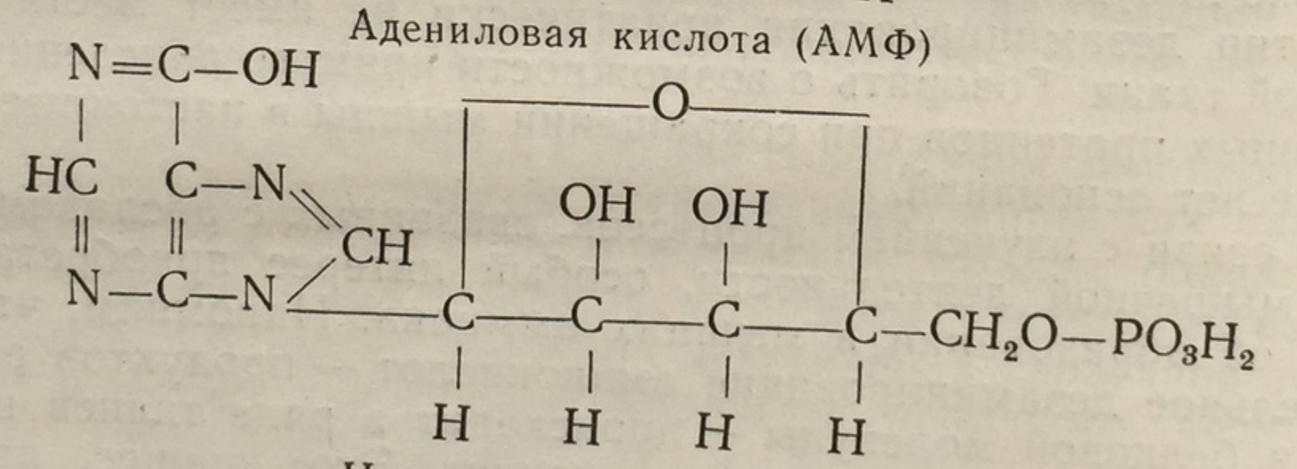
имеет; в настоящее время вопрос о химической природе важнейших аммониогенов в мышечной ткани разрешается совершенно иначе.

Образование аммиака в мышцах при их измельчении, а также во время развития окоченения было показано рядом авторов. Исключительно важную роль в механизме мышечной работы приписывал аммиаку Эмбден (Embden, 1925), считавший, что образование аммиака является необходимым условием мышечного сокращения. Хотя этот взгляд Эмбдена был вскоре опровергнут и в настоящее время не считается правильным, тем не менее возможность образования известного количества аммиака при мышечной работе ни у кого не вызывает сомнения. Повышение концентрации аммиака в мышцах наблюдалось также при раздражении мышц электрическим током, травматическом повреждении, нагревании и т. п.

Основным аммониогеном в мышце, по современным данным, является адениловая кислота. Это соединение подвергаясь дезаминированию с отщеплением аммиака превращается в инозиновую кислоту.



Адениловая кислота (АМФ)



Инозиновая кислота (ИМФ)

Образование аммиака в более или менее значительных количествах наблюдается в мышечной ткани лишь при появлении свободной адениловой кислоты в результате, например, дефосфорилирования аденозинтрифосфата или при воздействии миокиназы на аденозиндифосфат: 2 АДФ $\rightleftarrows$ АТФ + АМФ. Дезаминирование адениловой кислоты имеет место при измельчении мышцы, при ее окоченении, при блокировке гликолиза монойодуксусной кислотой или фторидом и т. д. Если, однако, к мышечному соку в присутствии йодацетата добавить фосфоглице-

риновую или фосфопировиноградную кислоты, то образование аммиака резко снижается, так как образующаяся при дефосфорилировании аденозинтрифосфата адениловая кислота тотчас же рефосфолируется фосфопировиноградной (или фосфоглицериновой) кислотой и, таким образом, ускользает от действия специфической дезаминазы Шмидта (Schmidt, 1928, 1932).

Поскольку дыхание, так же как и гликолиз, стимулирует ресинтез аденозинтрифосфата из адениловой кислоты, дезаминирование последнего соединения в аэробных условиях должно быть замедлено, что в действительности и отмечалось рядом авторов.

Д. Л. Фердманом и З. Ю. Нечипоренко (1946) было показано, что дезаминаза адениловой кислоты частью связана с миозином и не отделяется от него даже при многократном переосаждении, частью же находится в водорастворимой фракции мышечных белков.

Однако дезаминирующая активность миозина, как было показано М. Н. Любимовой (1954), не является его неотъемлемым свойством. При определенных условиях дезаминаза может быть полностью отделена от миозина.

Таким образом, в настоящее время надо считать доказанной возможность образования аммиака в мышцах во время работы в результате дезаминирования главным образом адениловой кислоты. Образование аммиака является, однако, не причиной мышечного сокращения, как думал Эмбден, но скорее его следствием.

Внимание многих исследователей уже давно привлекал вопрос и о путях устранения образовавшегося в мышцах при дезаминировании адениловой кислоты аммиака. Старое представление Эмбдена об обратимости реакции: адениловая кислота + + H_2O = инозиновая кислота + NH_3, сейчас большинством авторов отвергается. До недавнего времени обычно считалось, что большая часть освободившегося аммиака удаляется из мышц с током крови в виде главным образом аммонийных солей. Этот аммиак, как считалось, обезвреживается в печени животных путем превращения его в мочевину.

Однако такое представление несомненно не является правильным. В настоящее время можно утверждать, что большая часть освобождающегося аммиака обезвреживается, по-видимому, еще в мышечной ткани путем образования глютаминовой кислоты (из α-кетоглютаровой) и, что особенно важно, глютамина, а может быть и других амидов[1]. Весьма вероятно также, что часть освобождающегося аммиака может устраняться в мышцах и других органах путем превращения в амидные группы тканевых белков. Все эти соединения играют важную

---

[1] Наличие в животных тканях аспарагина недавно было показано с помощью метода распределительной хроматографии С. Р. Мардашевым (1950).

роль в качестве донаторов аминогрупп при синтезе в печени конечного продукта азотистого обмена — мочевины (Д. Л. Фердман, 1947). Последняя проблема не имеет, однако, уже прямого отношения к механохимии мышечного сокращения; подробно она рассматривается в докладе А. Е. Браунштейна «Некоторые черты химической интеграции процессов азотистого обмена» (1958).

РАЗВИТИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ О ПУТЯХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭНЕРГИИ ХИМИЧЕСКИХ ПРЕВРАЩЕНИЙ В МЫШЦЕ

Одновременно с разработкой проблемы химической природы субстратов, играющих роль «топлива» при мышечной работе, рядом исследователей в конце прошлого и в начале текущего века усиленно изучался вопрос о путях использования тех или иных химических превращений в работающей мышце.

Значительное влияние на развитие учения о химизме мышечного сокращения оказали работы Германа (Hermann, 1867), показавшего, что вырезанная и помещенная в атмосферу азота мышца способна еще к выполнению довольно значительной работы: при этом, однако, было установлено, что утомление в анаэробных условиях наступает значительно раньше, чем при доступе кислорода [1].

Аналогичные данные были получены и на изолированном сердце лягушки (Вайцзекер — Weizsäcker, 1911, 1912), отравленном цианистым калием. Так, оказалось, что сердечная мышца при почти полном отсутствии дыхания сохраняет до 60—80% своей первоначальной работоспособности.

Вскоре удалось показать, что во всех упомянутых выше случаях реакция мышечного сока постепенно становится кислой вследствие накопления в мышце молочной кислоты.

Образование лактата при посмертном окоченении мышц после очень интенсивной и длительной работы (в мышцах лани, загнанной на охоте) было описано еще ранее Берцелиусом (Berzelius, 1840).

Флетчер и Гопкинс (Fletcher a. Hopkins, 1907, 1917) уже точно установили, что количество анаэробно образующейся в изолированной мышце молочной кислоты пропорционально количеству произведенной мышцей работы и что накапливающийся при сокращении мышцы лактат быстро исчезает при отдыхе в атмосфере кислорода.

Этими же авторами было сформулировано положение о наличии двух фаз в работе мышцы — фазы анаэробного сокращения и фазы расслабления, сопровождающейся поглощением кислорода. Значение последнего процесса, по Флетчеру и Гоп-

---

[1] Необходимо, впрочем, подчеркнуть, что сам Герман неправильно истолковал свои экспериментальные данные и без достаточных оснований ввел в науку оказавшееся в дальнейшем бесполезным понятие об «иногене» — гипотетическом веществе, способном играть роль донатора кислорода при мышечном сокращении.

кинсу, сводится к восстановлению первоначальной возбудимости мышцы.

Весьма важные данные были затем получены Хиллом и Хартри (1920, 1921, 1922), изучавшими образование теплоты во время мышечной деятельности. Им удалось показать, что теплообразование при кратковременном тетанусе протекает двухфазно: часть теплоты, так называемая «начальная теплота», освобождается во время сокращения. Эта фаза иначе называется «начальной теплопродукцией». После окончания полного цикла мышечной деятельности, т. е. уже во время отдыха, начинает выделяться так называемая «теплота отдыха», эту фазу некоторые авторы обозначают как «отставленную теплопродукцию». Оба количества теплоты оказались приблизительно равными. В дальнейшем Хиллу и Хартри удалось установить, что «начальная теплота» развивается в мышце также не сразу, но освобождается последовательными волнами.

Не останавливаясь подробно на результатах этих методически чрезвычайно тонких исследований [1], заметим, что наиболее интересным фактом в этой серии экспериментов является наблюдение, согласно которому присутствие кислорода не оказывает никакого влияния ни на абсолютное количество «начальной теплоты», ни на скорость или характер ее образования. В кислороде возрастает лишь теплообразование во время отдыха. Таким образом был сделан вывод, что кислород необходим лишь для окислительного устранения ранее анаэробно образовавшихся продуктов. Подробнее этот вопрос рассматривается в гл. IV.

Что касается химической природы этого начального анаэробного процесса, то после ряда работ, главным образом Флетчера и Гопкинса, его начали отождествлять с гликолизом или гликогенолизом, т. е. анаэробным расщеплением глюкозы или гликогена с образованием молочной кислоты

Несколько позднее, изучая связь между образованием гликогена, появлением молочной кислоты, поглощением кислорода, теплообразованием и работоспособностью мышцы, Мейергоф пришел к выводу, что анаэробно образующаяся молочная кислота не может быть полностью удалена в период отдыха оксидативным путем.

По Мейергофу (1931), в период отдыха сгорает только часть молочной кислоты, причем за счет освобождающейся энергии протекает другая сопряженная эндотермическая реакция — ресинтез гликогена из молочной кислоты. Этим достигается большая экономия в потреблении гликогена. Таким образом, несмотря на анаэробный механизм мышечного сокращения, мышца в конечном итоге работает за счет энергии окисления углеводов. Эта концепция вошла затем во все курсы физиологии и биохи-

---

[1] Аппаратура, использованная Хиллом, позволяла регистрировать повышение температуры в мышце на 0,000 002°.

мии под названием цикла или реакции Пастера-Мейергофа, поскольку сберегающее влияние кислорода на сбраживание сахара микроорганизмами было ранее описано Пастером.

В организме человека при усиленной работе в мышцах может образоваться до 100 г молочной кислоты, которая поступает в ток крови. Это означает, что в условиях кислородной задолженности мышцы работают за счет главным образом энергии гликолиза. Для удаления образующейся молочной кислоты в период отдыха требуется поглощение значительного количества кислорода. Отсюда понятно, что обмен веществ остается повышенным в течение довольно долгого времени после окончания мышечной работы. В настоящее время известно, что большая часть молочной кислоты синтезируется обратно в гликоген в печени. В меньшей степени этот же процесс протекает и в мышечной ткани.

В период господства теории Мейергофа, когда образование молочной кислоты рассматривалось как абсолютно необходимое условие мышечного сокращения, превращениям углеводов в мышце придавалось, как уже указывалось, совершенно исключительное значение. При этом в известной мере игнорировался ряд старых и новых наблюдений (Крог и Линдгард — Krogh a. Lindhard, 1920), говоривших о возможности прямого использования мышцей при работе в качестве энергетического материала, наряду с углеводами, также жиров или, точнее, липоидов (фосфолипидов).

Определенное и притом весьма сильное влияние концепция Мейергофа оказала и на развитие представлений об обмене веществ в других тканях и клетках. Позднее это обстоятельство послужило причиной чрезвычайно резкой критики, которой подверглись работы Мейергофа со стороны некоторых авторов. Так, например, Лундсгард (Lundsgaard, 1937) в гарвеевской лекции, прочитанной им в ноябре 1937 г. и названной «Реакция Пастера — Мейергофа и ее значение в обмене веществ мышцы», говорит, что известный механизм Мейергофа был принят для дрожжевых клеток главным образом по аналогии с мышцей, без достаточных на то экспериментальных оснований. Мейергоф несет также ответственность как за представление, согласно которому мышца и аэробно всегда работает за счет углеводного обмена, так и за объяснение факта замедленного образования молочной кислоты в аэробных условиях непрерывным ресинтезом ее в гликоген.

Попутно Лундсгард отмечает, что этот ресинтез, по крайней мере для мышцы лягушки, проходит достаточно медленно.

Дискутируя с Мейергофом, Лундсгард говорит: «Пастер никогда не высказывал предположения, что замедление брожения в аэробных условиях объясняется ресинтезом конечного или интермедиарного продукта брожения в углевод. Такая интерпретация принадлежит целиком Мейергофу». И далее: «Хорошо из-

вестно, что даже значительная мышечная работа может выполняться на чисто жировой диете, причем величина дыхательного коэффициента в этом случае указывает на почти исключительное использование жиров. Опыты Крога и Линдгарда и более поздние исследования их учеников говорят об этом с большой убедительностью».

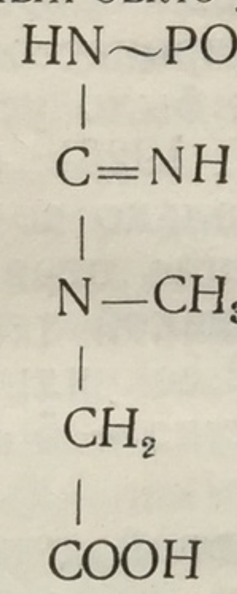
В резком противоречии с концепцией Мейергофа находилось также наблюдение Глейстер и Керли (Glaister и Kerly, 1936). Эти авторы указывали на существование некоторых беспозвоночных животных (например, Mytilus), мышцы которых вообще почти не способны к гликолизу, но обладают хорошо выраженной дыхательной функцией. Гликолиз в мышцах поэтому следует рассматривать лишь как полезное приспособление, обеспечивающее возможность работы в условиях кислородного голодания, но не как совершенно необходимое условие мышечного сокращения.

Дальнейшие успехи в развитии учения о химизме мышечного сокращения были, как известно, связаны с работами главным образом Лундсгарда (1930, 1931), показавшего в опытах на отравленной монойодуксусной кислотой мышце, что образование молочной кислоты вовсе не является обязательным условием тетануса.

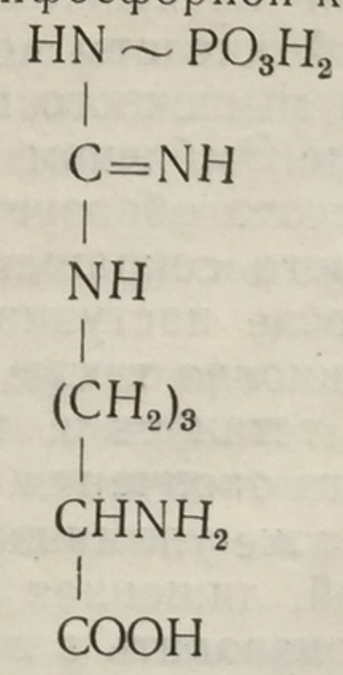
Так, оказалось, что мышца лягушки, отравленная йодацетатом — ингибитором гликолиза, сохраняет еще в анаэробных условиях способность к многократным сокращениям (до 80 сокращений). Эти данные Лундсгарда были затем подтверждены рядом авторов и вскоре вошли во все учебники по биологической химии и физиологии.

Весьма важные данные для прогресса знаний в этой области были получены в то же время или немного ранее рядом других авторов.

Эгглетоны, (Eggleton P. a. Eggleton G., 1927) и одновременно Фиске и Суббароу (Fiske a. Subbarow, 1927, 1929) выделили из мышцы органическое фосфорное соединение, так называемую креатинофосфорную кислоту или фосфаген. В мышцах беспозвоночных было установлено наличие аргининфосфорной кислоты.

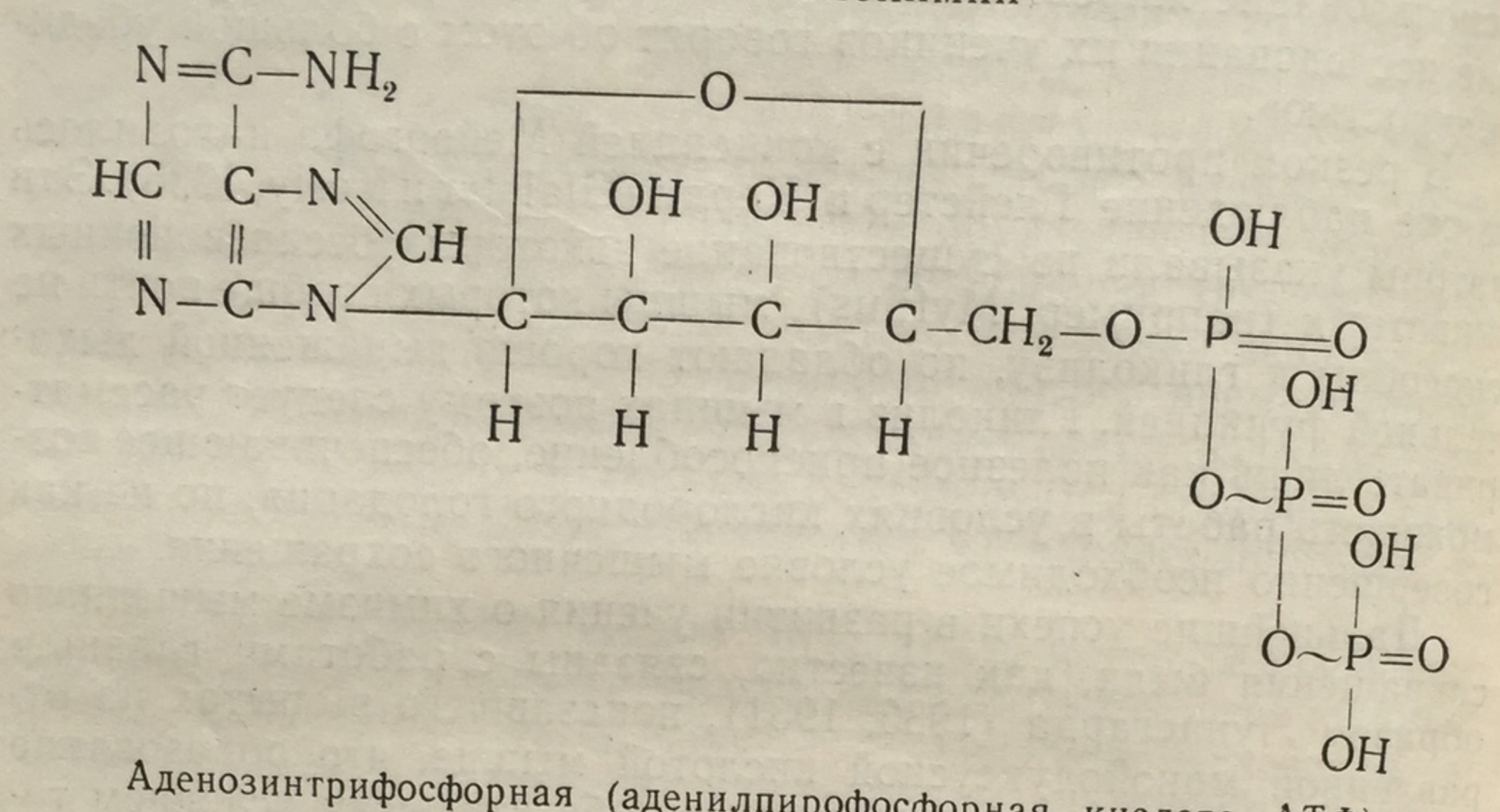


Креатинфосфорная кислота (фосфаген)



Аргининфосфорная кислота

Ломан (1929), а также Фиске и Суббороу (1929) установили наличие в мышцах аденилпирофосфорной или аденозинтрифосфорной кислоты — соединения, которое в дальнейшем заняло центральное место в мышечной биохимии



Аденозинтрифосфорная (аденилпирофосфорная кислота, АТФ)

Опубликование серии работ Лундсгарда, как известно привело к крушению казавшейся ранее незыблемой концепции Мейергофа — Хилла и к коренному пересмотру ранее существовавших представлений о химизме мышечной деятельности.

Не останавливаясь на отдельных этапах развития новых представлений о химизме мышечного сокращения и роли отдельных химических реакций при работе мышц, напомним, в каком состоянии этот вопрос находится в настоящее время.

Относительно химических процессов, протекающих во время сокращения в нормальной мышце, хорошо известно следующее: хотя в конечном итоге мышца обычно работает за счет энергии окислительных превращений, однако энергия тканевого дыхания, как уже отмечалось, непосредственно при мышечном сокращении не используется. Точно так же процесс образования молочной кислоты не связан непосредственно с процессом укорочения мышечного волокна. Действительно, как было установлено еще Эмбденом и сотрудниками (1926, 1927, 1928), молочная кислота образуется не только и даже не столько во время одиночного сокращения мышцы, сколько в течение первых секунд после наступившего расслабления. При низкой температуре гликолиз также начинается лишь через 1—2 секунды после начала тетануса и заканчивается через 30 секунд — 5 минут после его окончания (Лундсгард, 1934).

Как уже упоминалось, мышца, отравленная монойодуксусной кислотой, лишенная способности к гликолизу тем не менее может производить в анаэробных условиях еще некоторое количество работы. При этом наблюдается в больших размерах, чем

в нормальной мышце, распад креатинфосфорной кислоты[1]. Последняя в отравленной мышце в анаэробных условиях, по-видимому, и является основным веществом, дающим энергию. Так, например, оказалось возможным установить наличие определенного параллелизма между количеством работы, производимой отравленной мышцей в анаэробных условиях, и количеством распадающегося фосфагена. После исчерпания всех запасов фосфагена отравленная монойодацетатом мышца быстро утрачивает в анаэробных условиях способность отвечать сокращением на раздражение. Следует отметить, что ход теплообразования в отравленной монойодацетатом мышце не отличается от нормального (Генрикс и Лундсгард — Henriques a. Lundsgard, 1931).

Заметим, что на отравленной монойод- или монобромуксусной кислотой сердечной мышце было еще раз подтверждено, что основным источником энергии, необходимой для сохранения работоспособности мышцы при доступе воздуха, являются окислительные процессы, а при анаэробиозе — расщепление углеводов. Действительно, отравленное галоидоацетатом сердце перестает сокращаться в анаэробных условиях уже через несколько минут. При достаточно высокой концентрации монойодуксусной кислоты сердце останавливается уже после 10—100 ударов. В то же время при доступе воздуха, когда сохраняется еще возможность использования энергии окислительных процессов, сердце лягушки продолжает работать в течение 1,5—2 часов даже при более высоких концентрациях йодацетата (1 : 1500 — 1 : 10 000).

Однако и распад фосфагена с образованием креатина не совпадает во времени с моментом сокращения мышцы.

Согласно данным Х. С. Коштоянца и А. М. Рябиновской (1935), гуанидинфосфорные кислоты вообще отсутствуют в мышцах кролика на ранней стадии эмбрионального развития (до 20—22 дней), несмотря на то, что зародыш в это время обладает способностью к двигательной реакции при нанесении локальных раздражений.

Все это позволяет считать, что расщепление в мышце креатинфосфата (а также аргининфосфата) является лишь вспомогательным механизмом, обеспечивающим быстрый ресинтез другой, более важной субстанции.

В последнее время Карлсон и Зигер (Carlson a. Siger, 1957, 1958, 1959) вновь пытаются доказать, на основании определения количества фосфокреатина и АТФ, распадающегося при сокращении отравленной йодацетатом мышцы, что первичной реакцией, дающей энергию для мышечной работы, является распад фосфокреатина.

Однако эти данные находятся в резком противоречии с установленными школой Сент-Дьердьи и Вебера фактами, наглядно показывающими, что in vitro, в опытах на мацерированных мышечных волокнах и «клеточных моделях», механическая функ-

---

[1] Напомним здесь, что креатинфосфорная кислота в гладкой мускулатуре беспозвоночных животных замещена аргининфосфорной кислотой.

ция органелл движения осуществляется за счет энергии, аккумулированной в ангидридных фосфатных связях АТФ, или ее аналогов, но не фосфокреатина. Эти и ряд других соображений не дают основания придавать выводам Карлсона серьезного значения.

Основную роль при мышечной деятельности в настоящее время приписывают превращениям аденозинтрифосфорной кислоты, гидролитическое дефосфорилирование которой является типичной экзергонической реакцией.

Определение изменения свободной энергии (ΔF) этого процесса прямо не могло быть произведено. По старым расчетам Мейергофа эта величина (ΔF) должна быть порядка — 11,5 ккал. По данным Ломана (1932) и Олмейера (Ohlmayer, 1946) — около 12 ккал

По новым данным (Г. Е. Владимиров и др., 1957), ΔF реакции АТФ + H_2O → АДФ + H_3PO_4 выражается, однако, более низкими цифрами ($\simeq$5,6 ккал) для стандартных условий. Но в физиологических условиях ΔF этой реакции должно быть значительно выше: при концентрации H_3PO_4 = 0,01 М и равенстве концентрации АДФ и АТФ ΔF = —8,4, ккал.

Препаративно аденозинтрифосфорная кислота была выделена в 1929 г в виде бариевой соли из пирофосфатной фракции мышечного экстракта Ломаном. Тогда же было установлено, что во время умеренной работы, сопровождающейся распадом фосфагена, содержание аденозинтрифосфорной кислоты в мышце практически не меняется. Однако расщепление части аденозинтрифосфата можно обнаружить при более интенсивной работе. При недостаточном содержании аденозинтрифосфорной кислоты в мышечной ткани осуществление механических функций мышц оказывается совершенно невозможным. Полный распад аденозинтрифосфорной кислоты наблюдается при всех формах окоченения мышцы и при ее измельчении.

Дефосфорилирование аденозинтрифосфорной кислоты, согласно имеющимся данным, протекает путем отщепления одной или двух молекул ортофосфата с образованием аденозиндифосфорной или соответственно адениловой кислоты.

Д. Л. Фердман и О. И. Файншмидт (1935) настаивают, однако, на возможности отщепления от аденозинтрифосфорной кислоты пирофосфата с образованием сразу адениловой кислоты. Последнее, впрочем, категорически оспаривалось Парнасом. В последнее время было установлено, что при образовании «активных форм» жирных кислот (ацилкоэнзимов А) макроэргическая связь действительно образуется в результате распада АТФ на адениловую кислоту и неорганический пирофосфат.

Центральное место аденозинтрифосфорной кислоты в механизме мышечной деятельности особенно выявилось после того, как В. А. Энгельгардтом и М. Н. Любимовой (1939, 1941, 1942) было показано, что расщепление аденозинтрифосфорной кис-

лоты (АТФ) катализируется сократительным белком мышцы — миозином, коллоидное состояние которого (модуль, упругости) при этом в свою очередь изменяется. Подробнее последняя проблема рассматривается в гл. III.

Резюмируя все сказанное о взаимосвязи важнейших дающих энергию анаэробно протекающих процессов (гликолиза, расщепления креатинфосфата и гидролиза аденозинтрифосфорной кислоты), необходимо подчеркнуть, что в настоящее время подавляющее большинство авторов трактует этот вопрос таким образом, что процессом, непосредственно связанным с работающим механизмом поперечнополосатого мышечного волокна, является распад аденозинтрифосфата. Расщепление креатинфосфата не может играть такой роли уже потому, что в мышце отсутствуют ферменты, непосредственно гидролизирующие фосфаген[1]. По-видимому, дефосфорилирование фосфагена в мышце протекает если и не исключительно, то во всяком случае, главным образом путем переэстерификации его с адениловой или аденозиндифосфорной кислотой с образованием аденозинтрифосфата; последний затем легко расщепляется в присутствии фермента аденозинтрифосфатазы на ортофосфорную и аденозиндифосфорную или адениловую кислоты. С этой точки зрения фосфаген следует рассматривать лишь как легко мобилизуемый резерв фосфатных групп. Таким образом можно было бы объяснить и установленный А. В. Палладиным и его школой факт повышенного содержания фосфокреатина и креатина в мышцах тренированных животных, отличающихся, как известно, высокой работоспособностью и незначительной утомляемостью (А. В. Палладин и Д. Л. Фердман, 1928; Д. Л. Фердман и О. И. Файншмидт, 1929; А. В. Палладин, Л. Палладина и Е. Персова, 1931).

Возникшее главным образом благодаря трудам школы А. В. Палладина (А. В. Палладин, 1945) учение о биохимической сущности состояния тренированности обогатилось за последние годы рядом интересных исследований. Полную сводку этих достижений можно найти в работах Н. Н. Яковлева (1949, 1955, 1958).

Необходимо обратить внимание на следующее положение, значительно уточняющее наши представления о биохимизме мышечной деятельности человека и животных при различных условиях: существуют два вида тренированности мышц — тренированность к скоростным нагрузкам (например, бег на короткие дистанции) и тренированность на выносливость (ходьба, кроссы на большие расстояния и др.), когда мышца работает в условиях «устойчивого состояния», т. е. главным образом за счет энергии окислительных процессов. Впрочем, такая классификация различных видов тренированности, как подчеркивает Н Н. Яковлев, несомненно, схематизирована, поскольку в действительности существует множество переходных форм, в которых «элементы аэробной и анаэробной работы сочетаются в различных соотношениях».

Тренированность к скоростным нагрузкам не может быть объяснена усилением постулированного В. А. Белицером (1940) фосфагенно-дыхательного

---

[1] Напомним, что и в других тканях до сих пор никем не было показано наличие ферментов «креатинфосфатаз», катализирующих гидролиз фосфагена. Фосфаген является весьма нестойким соединением, легко теряющим фосфатную группу неэнзиматическим путем.

механизма, позволяющего мышце работать без мобилизации гликогена. В самом деле, как отмечает Н. Н. Яковлев, при беге на короткие дистанции длительность работы мышц оказывается настолько малой, что за время от старта до финиша кровь не успевает даже пройти весь большой круг кровообращения. Следовательно, в этих условиях повышенная работоспособность тренированной мышцы никак не может быть объяснена усилением в мышечной ткани тех или иных окислительных процессов и, в частности, повышением способности к оксидативному ресинтезу фосфагена или лабильных фосфорных эфиров.

Таким образом, сущность тренировки к скоростным нагрузкам сводится, по-видимому, к накоплению в мышце веществ (фосфагена и гликогена), обеспечивающих быстрый анаэробный ресинтез аденозинтрифосфорной кислоты, и к созданию условий, при которых ферментные системы гликогенолиза и анаэробного ресинтеза аденозинтрифосфорной кислоты приобретают способность к сохранению своей активности в более широком диапазоне меняющихся условий (Н. Н. Яковлев, 1949; см. также Н. Н. Яковлев и Л. И. Ямпольская, 1947; Н. Н. Яковлев, 1955, 1958).

Напротив, при тренировке «на выносливость» мышца приспособляется к выполнению работы в условиях «устойчивого состояния» при достаточном снабжении кислородом. Этот вид тренированности может быть связан и с усилением «фосфагенно-дыхательного механизма», с увеличением содержания в мышце фосфолипидов, холестерина, глютатиона, аскорбиновой кислоты и с повышением активности и устойчивости дыхательных ферментных систем.

Несколько, однако, иные представления о биохимических сдвигах в составе мышц при тренировке развивает А. М. Кашпур (1948). По данным этого автора, тренировка усиливает в мышцах те свойства и особенности, которые характерны для красных мышц, отличающихся от белых значительно меньшей утомляемостью.

Что касается содержания в мышцах фосфокреатина и креатина, то, по данным В. Клименко и А. М. Кашпур (1939) и В. Овчаренко (1939), никакой разницы между содержанием этих веществ в тренированных и нетренированных мышцах (кролика, голубя и кур) обнаружить не удается. Ряд существенных данных о биохимических сдвигах при тренировке можно найти в статье Р. В. Чаговец (1954) (см. также Н. Р. Чаговец, 1957).

Из работ, посвященных изучению биохимизма процессов утомления, необходимо назвать исследования Гефтер Ю. М. и сотрудников, исследовавших сдвиги в содержании фосфорной кислоты, щелочного резерва, ацетоновых тел, молочной кислоты и т. п. в крови людей при различных видах трудовой деятельности, а также выделение с мочой у обследуемых субъектов мочевины и фосфорной кислоты (Ю. М. Гефтер и Р. Я. Юделович, 1929; Гефтер Ю. М. и В. М. Кирьян, 1937; Ю.М. Гефтер и Е. Н. Асмолова, 1937).

При наиболее тяжелом физическом труде у молотобойцев, по данным названных авторов, наблюдалось развитие хронического ацидоза, вследствие повышенного образования фосфорной кислоты и ацетоновых тел и снижения щелочного резерва крови.

Не может быть сомнений в том, что дальнейшая разработка с биохимической стороны проблемы повышения работоспособности мышц приведет к открытию новых интересных фактов и представлений, необходимых для правильного разрешения ряда практически важных вопросов, связанных с увеличением производительности труда и борьбы с утомляемостью.

Возвращаясь к вопросу о взаимосвязи различных экзотермических процессов, протекающих в мышце при ее сокращении, мы можем принять, что расщепление креатинфосфорной кислоты, гликолиз и даже дыхание связаны с работающим механизмом мышцы лишь через адениловую систему. Нужно подчеркнуть, что в настоящее время такая структурно-химическая расшифровка связи между ресинтезом аденозинтрифосфорной кислоты и

основными экзотермическими, дающими энергию процессам, вполне возможна.

Действительно, как известно, при важнейшем анаэробном экзотермическом процессе, — расщеплении углеводов с образованием молочной кислоты — всегда образуются фосфорилированные продукты (например, 1—3-дифосфоглицериновая и фосфопировиноградная кислоты), способные служить донаторами фосфатных групп, за счет которых аденозиндифосфорная кислота фосфорилируется в аденозинтрифосфорную.

Такая же связь существует между процессом дефосфорилирования креатинфосфорной кислоты и рефосфорилированием аденозиндифосфата.

Нетрудно также установить связь между процессом ресинтеза аденозинтрифосфорной кислоты и окислением углеводов, поскольку первые этапы окисления углеводов и анаэробного гликолиза, по-видимому, совпадают. Хотя отдельные промежуточные продукты оксидативного распада сахара и не столь хорошо изучены, как промежуточные продукты его анаэробного расщепления, тем не менее возможность переноса в процессе тканевого дыхания фосфатных групп с фосфорилированных обломков молекулы углевода на аденозиндифосфорную кислоту не вызывает сомнения.

Этот процесс «субстратное фосфорилирование», обнаруженное В. А. Энгельгардтом (1930, 1932) (см. также А. А. Баев, 1959), является одной из форм окислительного фосфорилирования. Особенно важное значение имеет окислительное фосфорилирование в лимоннокислом «котле». Можно также говорить о связи между рефосфорилированием аденозиндифосфорной кислоты и окислением различных других веществ неуглеводной природы.

После опубликования обративших на себя всеобщее внимание работ В. А. Белицера и сотр. (1939), Калькара (Kalckar, 1939) и др. стало несомненным, что перенос электронов в цепи дыхательных катализаторов всегда может быть сопряжен с процессами окислительного фосфорилирования (фосфорилирование в цепи дыхательных катализаторов). Этими широко известными исследованиями, очевидно, устанавливается возможность передачи химической энергии окислительных процессов работающему механизму клетки путем накопления богатых энергией фосфорных соединений, независимо от того, какая субстанция подвергается окислению.

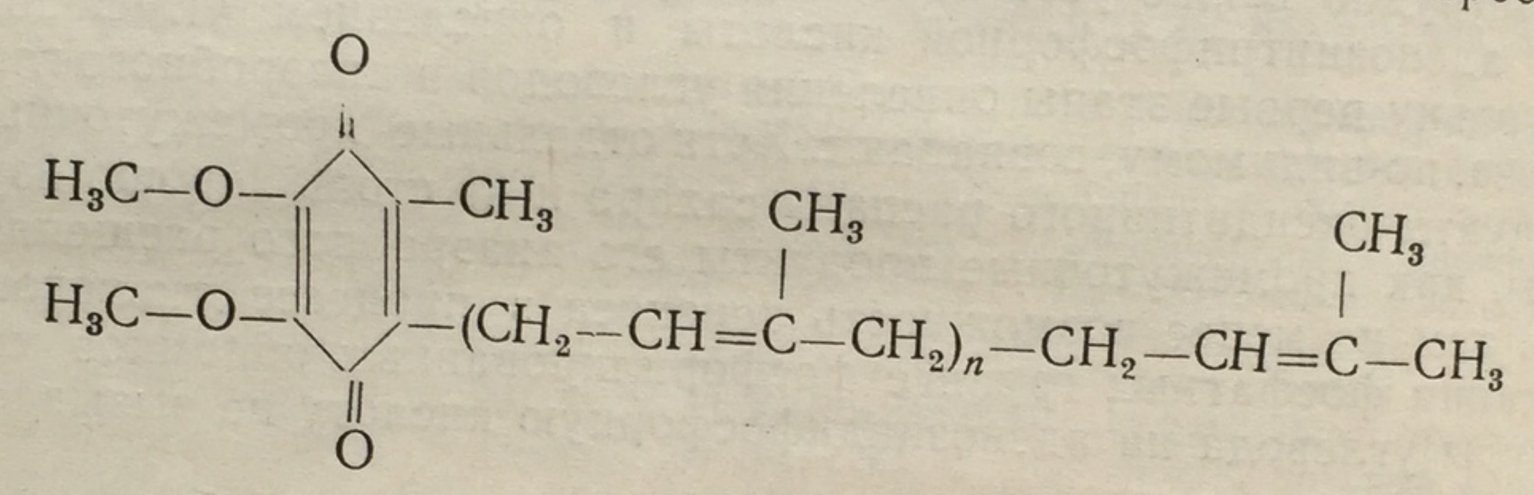
Изложение современного состояния этой крайне важной проблемы можно найти в специальных обзорах и монографиях.

В последние годы было установлено, что окисление ряда веществ (пировиноградной кислоты, жирных кислот) в лимоннокислом цикле, перенос электронов и окислительное фосфорилирование протекают в клеточных гранулах — митохондриях, которые можно рассматривать как сложно организованные комплексы энзимов.

С помощью особых приемов дробления митохондрий на отдельные фрагменты удалось установить микролокализацию ряда ферментов и коферментов в митохондриях и в значительной мере расшифровать механизм окислительного фосфорилирования (Грин — Green, 1959).

Митохондрии можно рассматривать как микроструктуры, основной функцией которых является образование АТФ из АДФ и H_3PO_4 за счет энергии окисления пирувата и некоторых других веществ.

Установлено, что в этом процессе важную роль играет особый липорастворимый коэнзим, получивший название коэнзима *Q*. Этот коэнзим (убихинон) имеет следующее строение:



В случае коэнзима, выделенного из бычьего сердца, $n = 9$, для азотобактера $n = 7$; $n = 5$ в случае Saccharomyces cerevisiae.

Как видно из приведенной формулы, коэнзим *Q* можно рассматривать как производное хинона.

По Грину, механизм окислительного фосфорилирования, протекающего в митохондриях с участием коэнзима *Q*, можно представить следующей схемой:

$$1)\ R{-}Fe^{++} + H^{+} + Q \rightarrow R - Fe^{+++} + Q^{-}OH$$

$$2)\ Q^{-}OH + H_3PO_4 \rightarrow Q^{-}OPO_3H_2 + H_2O$$

$$3)\ Q^{-}PO_3H_2 + ADP + Fe^{+++}\ (\text{цитохр. } C) \rightarrow Q + 2ATP + Fe^{++}\ (\text{цитохр. } C) + H^{+}$$

где *Q* — хинонная форма коэнзима *Q*;
$Q^{-}OH$ — его семихинонная форма;
$Q^{-}PO_3H_2$ — семихинон — фосфат коэнзима *Q*.

Здесь впервые делается попытка структурно-химической расшифровки связи между переносом электронов в цепи дыхательных катализаторов с участием цитохрома *C* и образованием АТФ из H_3PO_4 и АДФ.

Большое число работ было посвящено изучению вопроса о влиянии различных «разобщающих» ядов, т. е. веществ, в присутствии которых становится невозможным окислительное фосфорилирование, на механическую функцию мышц и подвижных клеток.

Влияние химических агентов, нарушающих сопряженное фосфорилирование, на основные функции сердца лягушки изучалось, например, в лаборатории В. М. Карасика, И. П. Лапиным (1959). Этому вопросу посвящены специальные работы и обзорные статьи.

Представление об особой роли аденозинтрифосфорной кислоты при сокращении мышечного волокна было особенно убедительно продемонстрировано в работах В. А. Энгельгардта и М. Н. Любимовой (1939, 1941, 1942) и в исследованиях Сент-Дьердьи и сотрудников (Штрауб — Straub, 1942, 1943; Банга — Banga, 1943; и др.).

Как известно, В. А. Энгельгардт и М. Н. Любимова еще в 1939—1941 гг., проводя свои исследования над сократительным веществом мышцы — белком миозином, обладающим ясно выраженными аденозинтрифосфатазными свойствами, показали, что особым образом приготовленные и подвергнутые уплотнению в воде (см. М. Н. Любимова, 1957) миозиновые нити при взаимодействии с аденозинтрифосфатом резко изменяют свои механические свойства (изменяется их модуль упругости, растяжимость увеличивается на 50—100% и более).

Эти наблюдения В. А. Энгельгардта и М. Н. Любимовой сразу же привлекли всеобщее внимание, наметили возможность объяснения самого механизма превращения химической энергии в механическую работу и заложили фундамент для нового направления в биохимии — механохимии мышечного сокращения.

Несколько позднее венгерские биохимики показали, что белковые нити, приготовленные выдуванием из тонкого капилляра раствора мышечного белка — актомиозина — в воду энергично сокращаются при перенесении их в свежеполученную мышечную плазму или солевую среду, близкую по своему составу к мышечной плазме (0,05 М KCl, 0,001 М $MgCl_2$ и 0,1% АТФ).

Сент-Дьердьи и сотрудниками было также показано, что под влиянием АТФ в присутствии солей калия и магния происходит быстрое сокращение мацерированных в воде мышечных волокон.

Эти, сделавшие эпоху в мышечной биохимии исследования окончательно утвердили в науке представление об АТФ, как о важнейшем и притом непосредственном поставщике энергии для мышечного сокращения.

Нетрудно видеть, что между данными В. А. Энгельгардта и М. Н. Любимовой и работами венгерской школы биохимиков имеется известное противоречие. Противоречие это состоит в том, что по одним данным АТФ необходима для сокращения (данные

Сент-Дьердьи), по другим (данные В. А. Энгельгардта и М. Н. Любимовой) — для расслабления мышцы.

Попытку внести ясность в этот вопрос предпринял ряд авторов (Бухталь с сотр., 1944; И. И. Иванов и Т. И. Иванова, 1949, И. И. Иванов, 1950 а и б; Л. И. Торбочкина, 1953; Портцель, 1951, 1952; и др.).

На основании сопоставления данных всех этих исследований в настоящее время можно считать установленным, что ответ актомиозиновых и миозиновых гелей (нитей) на добавление АТФ может быть различным в зависимости от условий опыта. При физиологических концентрациях KCl (до 0,16 М) актомиозиновые гели в присутствии АТФ всегда подвергаются синерезису, т. е. изодименсиональному сокращению.

При некоторых других условиях и нефизиологических концентрациях солей актомиозиновые нити могут при добавлении АТФ подвергаться набуханию, анизодименсиональному сокращению (опыты Л. И. Торбочкиной, 1953), растяжению под нагрузкой (опыты В. А. Энгельгардта и М. Н. Любимовой, 1942) и т. д.

Хотя при физиологической концентрации солей характерной для актомиозиновых нитей реакцией на АТФ является синерезис, однако важно, что и другие ответы актомиозиновых нитей на добавление АТФ, наблюдаемые при других условиях опыта, по-видимому, требуют также сохранения АТФ-азной активности сократительного белка. Таким образом, эти модели в той или иной мере пригодны, как и модели, предложенные Сент-Дьердьи, для демонстрации связи между ферментативной активностью белка и изменением его внутренней структуры (физического состояния) в процессе взаимодействия с АТФ. К этому вопросу мы еще вернемся несколько дальше.

Внимание специалистов, работающих в области мышечной биохимии, одно время привлекали исследования Бухталя с сотр.

Бухталь сообщил, что актомиозиновая нить в одном и том же солевом растворе подвергается либо синерезису, т. е. изодименсиональному сокращению, либо, если она находится под нагрузкой, растяжению.

В связи с этим необходимо отметить, что именно этот исследователь несет до некоторой степени ответственность за ту путаницу, которая возникла в мышечной биохимии в данном вопросе после опубликования работ, выполненных в его лаборатории.

Опыты Бухталя фактически не были подтверждены другими авторами. Проверка его данных была произведена несколько лет тому назад в лаборатории И. И. Иванова. Эта проверка показала, что актомиозиновые нити, подвергающиеся под влиянием АТФ в растворе Сент-Дьердьи быстрому синерезису и, следовательно, обладающие выраженной ферментативной активностью, под нагрузкой растягиваются в том же растворе лишь в очень редких случаях (см. И. И. Иванов и Т. М. Иванова, 1949; И. И. Иванов, 1950 а, б и в). Как правило, нити под нагрузкой при добавлении АТФ не растягиваются, а рвутся. Такое их поведение является вполне понятным, если учесть, что нативные не

подвергавшиеся уплотнению актомиозиновые нити не обладают эластичностью, как это впервые отметил Сент-Дьердьи (1947).

С другой стороны, актомиозиновые нити, подвергавшиеся тем или иным денатурационным воздействиям, приобретают ярко выраженную эластичность и способность к обратимому растяжению при изменении величины приложенной к ним нагрузки. Это позволяет думать, что в тех редких случаях, когда цитированные выше авторы наблюдали при добавлении АТФ растяжение под нагрузкой нитей, находящихся в растворе Сент-Дьердьи, имела место частичная денатурация белка под влиянием каких-то трудно учитываемых факторов (возможно, следов тяжелых металлов, например Hg, вносимых с препаратом АТФ).

Таким образом, в настоящее время, по-видимому, нет достаточных оснований для утверждения, высказанного впервые Бухталем, что ферментативно-активная, неденатурированная актомиозиновая нить может в одном и том же солевом растворе подвергаться в присутствии АТФ либо синерезису, либо растяжению.

В действительности нативная актомиозиновая нить при физиологических концентрациях солей в присутствии АТФ подвергается синерезису (сокращается); при нефизиологических же условиях она может реагировать на добавление АТФ иначе.

Возвращаясь к опытам В. А. Энгельгардта и М. Н. Любимовой, экспериментировавших с миозиновыми нитями, нетрудно установить, что эти исследования проводились в условиях, отличавшихся от условий, при которых работали Бухталь и другие авторы. В опытах В. А. Энгельгардта и М. Н. Любимовой ферментативно активные нити были приготовлены и их свойства изучались в условиях, при которых нельзя было наблюдать явления синерезиса геля под влиянием АТФ вследствие иного состава среды, большой толщины нитей, предварительного их уплотнения в воде (М. Н. Любимова, 1957), возможно также недостаточного содержания в них актина и т. д.

В силу этих причин эффект взаимодействия АТФ с миозином проявлялся в данном случае в форме повышения модуля упругости нитей и увеличения их растяжимости под нагрузкой.

Правда, нельзя не отметить, что сходный, хотя и не вполне идентичный, эффект наблюдался и при воздействии на нити неорганического пирофосфата, метафосфата и т. д., т. е. в условиях, при которых ферментативное расщепление этих соединений миозином полностью исключалось.

С другой стороны, синерезис (сокращение) актомиозиновых нитей в растворе Сент-Дьердьи под влиянием АТФ является вполне специфической реакцией, вызываемой только нуклеозидтрифосфатами, содержащими макроэргические фосфатные связи (см., однако, стр. 98).

Какая же из этих реакций является наиболее совершенной моделью мышечного сокращения? Несомненно, что в настоящее время в подавляющем большинстве лабораторий широко используются при изучении ряда вопросов мышечной биохимии актомиозиновые нити, приготовленные по Сент-Дьердьи. Этот метод отличается чрезвычайной простотой и абсолютной воспроизводимостью.

Тем не менее, нельзя не отметить, что и те и другие модели (т. е. модели В. А. Энгельгардта и М. Н. Любимовой, с одной стороны, и Сент-Дьердьи, с другой) пригодны для демонстрации связи между ферментативной (АТФ-азной) активностью сократительного белка и его способностью изменять свое физическое состояние. В этом и заключается выдающееся значение описанных выше наблюдений и экспериментов.

ГЛАВА III

ДАЛЬНЕЙШЕЕ РАЗВИТИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ ПО МЕХАНОХИМИИ МЫШЦ (СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ВОПРОСА)

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ АТФ В АКТЕ МЫШЕЧНОГО СОКРАЩЕНИЯ

За последнее время было сделано несколько попыток произвести ревизию существующих представлений, касающихся роли АТФ в механизме мышечного сокращения; некоторые авторы находили даже возможным предсказывать начало революции в области мышечной биохимии, подобной той, которая произошла после опубликования в 1930 г. работы Лундсгарда, опрокинувшей казавшуюся тогда незыблемой теорию мышечной деятельности Мейергофа — Хилла (см. гл. II).

Основанием для такого рода высказываний послужил следующий ряд фактов: появился ряд сообщений о возможности сокращения мышечных волокон без расщепления АТФ (Флекенштейн и сотр.— Fleckenstein u. a., 1954; Моммертс — Mommaerts, 1955). Последний автор исследовал сдвиги в содержании АТФ и фосфокреатина при одиночном сокращении и последующем расслаблении мышечного волокна. При этом была применена методика, позволяющая учитывать распад минимальных количеств АТФ (порядка 0,05—0,025 μM на грамм ткани), а также образование в эквивалентных количествах аденозиндифосфорной и адениловой кислот. Кроме того, учитывался и распад фосфокреатина. Заметного распада аденозинтрифосфата и фосфокреатина и соответствующего повышения концентрации аденозиндифосфорной и адениловой кислот при одиночном сокращении мышечного волокна Моммертсу обнаружить, однако, не удалось.

К аналогичным выводам несколько раньше пришли Флекенштейн, Янке, Лехнер и Бауэр (Fleckenstein, Janke, Lechner u Bauer 1954), работая с изолированной m. recti лягушки. По данным этих авторов, среднее содержание АТФ на грамм свежей ткани (использовался метод количественной хроматографии фосфорных фракций на бумаге) составляло в сокращенной m. recti при 0° 2,82 микромоля; содержание АДФ в сокращенной мышце было соответственно 0,71 микромоля на грамм ткани. Практически те же цифры были получены и при определении содержания АТФ и АДФ в покоящейся мышце. Коэффициент АТФ/АДФ (молярное соотношение) в сократившейся мышце также почти не отличался от такового в мышце покоящейся (4,29 — в первом случае и 4,27 — во втором).

Не удалось обнаружить при быстром тетаническом сокращении m. recti изменения в содержании АТФ и АДФ по сравнению

с покоящейся мышцей и при 20°. Так, среднее содержание АТФ в 12 сократившихся и 12 покоящихся мышцах было в обоих случаях одно и то же (около 2,77 микромоля на 1 г ткани); содержание АДФ выражалось цифрами соответственно 0,87 μM/г ткани и 0,91 μM/г ткани. На основании этих данных Флекенштейн с сотр. (1954) приходит к выводу, что тетаническое сокращение может возникать независимо от распада АТФ и креатинфосфата в мышечном волокне. По данным этих авторов, только при более продолжительном тетанусе при 20° можно обнаружить в течение 1—2 секунд после начала раздражения заметное расщепление креатинфосфата. Авторы высказывают предположение, что энергия расщепления креатинфосфата в мышечных волокнах используется, также как и при работе электрических органов рыб, лишь для зарядки разряженных клеточных мембран.

Необходимо, однако, отметить, что все вышеприведенные данные находятся в известном противоречии с результатами работы Манх-Петерсен (Munch-Petersen, 1953), которая несколько раньше обнаружила при сокращении мышцы черепахи заметное образование АДФ, соответствовавшее, по ее расчетам, количеству распавшегося аденозинтрифосфата и выделившейся теплоты. Ланге (Lange, 1955), работая с мышцами лягушки, также наблюдал распад АТФ во время фазы сокращения с образованием АДФ и последующее снижение концентрации креатинфосфата.

Противоречивость выводов, сделанных различными исследователями, разрабатывавшими данный вопрос, объясняется, повидимому, методическими трудностями, возникающими при проведении такого рода работ, и заставляет считать несколько преждевременной окончательную их оценку. Не вызывает, однако, сомнения то обстоятельство, что ресинтез АТФ в мышце происходит в норме, в согласии с имевшимися и ранее данными, с чрезвычайно большой скоростью. Необходимо также подчеркнуть, что наблюдения Флекенштейна и сотр. (1954) и Моммертса (1955), вероятно, могут быть до некоторой степени объяснены в свете новых данных, определенно говорящих о том, что расщепление АТФ актомиозином, сопровождающееся сокращением этого белка, не является реакцией вполне специфичной для АТФ, как это предполагалось раньше.

Как оказалось, актомиозиновые гели способны расщеплять не только АТФ, но также и другие пуринрибозотрифосфаты, например, инозинтрифосфат (ИТФ) и гуанозинтрифосфат (ГТФ), и даже пиримидинрибозотрифосфаты типа уридинтрифосфата (УТФ) и цитидинтрифосфата (ЦТФ) (Спайсер и Боуэн — Spicer a. Bowen, 1951; Бергквист и Дейтш — Bergkvist u. Deutsch, 1954; Блюм — Blum, 1955). Расщепление ИТФ, УТФ и ЦТФ, также как и расщепление АТФ, сопровождается сокращением актомиозиновых гелей (Бергквист и Дейтш, 1954; Блюм, 1955;

Ранни — Ranney, 1954; Портцель, 1954). По данным Хассельбах (Hasselbach, 1956), тот же эффект вызывают ацетил — АТФ и ГТФ.

Наличие небольшого количества ЦТФ, УТФ и ГТФ в живых мышцах было недавно показано Бергквистом и Дейтш (1954), Мак-Лафлином, Шифман и Сент-Дьердьи (McLaughlin, Schiffmann u. Szent-Györgyi, 1953).

Таким образом, АТФ, возможно, является не единственным макроэргом, способным взаимодействовать в живой мышце с контрактильным мышечным белком. Последнее предположение подтверждается, в частности, работами Флекенштейна, Янке, Дэвис и Кребса — (Fleckenstein, Janke, Davies и Krebs, 1954), установивших, что при определенных условиях сокращение мышцы, хотя и не сопровождается снижением в ней концентрации АТФ и фосфокреатина, но в то же время связано с заметным возрастанием содержания неорганического фосфата, по-видимому, за счет распада неидентифицированного авторами фосфорного соединения.

Здесь же можно напомнить, что согласно данным Берг и Джоклик (Berg a. Joklik, 1953) из мышечной ткани удается выделить фермент, катализирующий реакцию перефосфорилирования между АТФ и УТФ.

Все это позволяет считать, что в настоящее время, по-видимому, нет достаточно серьезных оснований для ревизии существующих взглядов относительно роли АТФ (или близких к АТФ макроэргов — пуринрибозо- или пиримидинрибозотрифосфатов) в двухфазной мышечной деятельности. По крайней мере полностью сохраняется представление о необходимости участия АТФ в сократительном процессе. Возможность сокращения мацерированного мышечного волокна in vitro под влиянием АТФ, УТФ и ИТФ, протекающего анизодименсионально, и во многих отношениях подобно сокращению живой мышцы является неопровержимым доказательством существования теснейшей связи между актом мышечного сокращения и взаимодействием сократительного мышечного белка с богатыми энергией фосфорными соединениями.

Сокращение может происходить лишь при определенных условиях. Вебер. (Weber, 1958) формулирует эти условия, на основании работ как своей школы, так и школы Сент-Дьердьи, следующим образом: прежде всего необходимо, чтобы pH среды оставалось в физиологических пределах (между 6,5 и 8,0); ионная сила раствора должна быть около 0,15; в растворе должны присутствовать ионы Mg; АТФ, или другие нуклеозидтрифосфаты (НТФ), должны расщепляться актомиозином с достаточной скоростью ($\geqslant 0{,}02\ \mu M$ на мг белка в минуту). Само собой разумеется, что расщепление АТФ должно происходить под действием АТФ-азы актомиозина, но не других фосфатаз.

Скорость расщепления нуклеозидтрифосфатов и максималь-

ное напряжение, развиваемое при сокращении, изменяется в ряду аналогов АТФ, по данным Вебера, следующим образом:

$$\text{АТФ} \simeq \text{ацетил} - \text{АТФ} \simeq \text{ЦТФ} > \text{ИТФ} \geqslant \text{УТФ} > \text{ГТФ},$$

где ЦТФ — цитидинтрифосфат, ИТФ — инозинтрифосфат, УТФ — уридинтрифосфат, ГТФ — гуанозинтрифосфат.

Интерес представляют также данные, приведенные в обзорной статье Вебера (1955), в которой указывается, что максимальное напряжение (в кг/см^2), развиваемое при сокращении различных видов мышц, соответствует напряжению, возникающему при укорочении выделенных из этих мышц отмытых мышечных волокон при воздействии на них АТФ (табл. 1).

Таблица 1

Максимальное напряжение $\left(\text{в } \frac{\text{кг}}{\text{см}^2}\right)$, развиваемое различными типами мышц и отмытыми мышечными волокнами

Вид мышц	Живые мышцы	Отмытые мышечные волокна
Скелетная мускулатура кролика . .	5	4
» » лягушки .	2	3
Гладкая мускулатура:		
аддуктор анадонты { желтая часть	4,5	5
аддуктор анадонты { белая часть .	4,5	2
Продольная мышца прямой кишки рогатого скота	0,7	0,6

Таким образом, убедительно подтверждается представление о реакции между актомиозином и АТФ, как процессе, лежащем в основе явления сокращения мышечного волокна и in vivo.

Итак, мы будем считать доказанным, что сокращение мышечного волокна происходит в результате взаимодействия его с АТФ или некоторыми другими пуриновыми или пиримидиновыми аналогами аденозинтрифосфата, содержащими макроэргические фосфатные связи. В то же время, однако, несомненно, что в мышечной биохимии назревают события и накапливаются факты, которые, возможно, приведут к пересмотру некоторых представлений, занимавших ранее положение краеугольного камня в учении о механохимии мышц.

Прежде всего под обстрел берется представление об АТФ-азной активности миозина, как о неотъемлемом свойстве контрактильного белка, определяющем возможность превращения химической энергии в мышце в механическую работу.

По-видимому, действительно, реакция гидролиза АТФ, катализируемая миозином, лишь теснейшим образом связана с

какими-то другими процессами, непосредственно снабжающими мышцу энергией, необходимой для сокращения, но ее нельзя рассматривать как реакцию, прямо доставляющую энергию контрактильному механизму клетки. Положение о том, что энергия, освобождающаяся при гидролизе АТФ с образованием АДФ и H_3PO_4 в форме теплоты, никак не может быть использована в мышце для механических целей является вполне очевидным, поскольку живые организмы работают не по принципу тепловой машины (см. гл. IV). Следовательно, при утилизации во время мышечной деятельности энергии, аккумулированной в АТФ, должен иметь место какой-то иной более сложный механизм взаимодействия АТФ с контрактильным белком.

Если встать на эту точку зрения, то тогда возможность одиночного сокращения мышечного волокна без расщепления в процессе сокращения АТФ на АДФ и H_3PO_4 не будет уже казаться чем-то абсолютно невероятным. О такой возможности говорят не только данные прямых опытов, в которых не удалось показать заметного расщепления АТФ при одиночном сокращении (или расслаблении) с образованием неорганического фосфата (см. выше), но и многие косвенные соображения и наблюдения (см. Боуэн и Мартин — Bowen a. Martin, 1958). Имеются, например, сообщения о различном влиянии повышенной концентрации KCl на степень укорочения «глицериновых» мышечных волокон и скорость дефосфорилирования ими АТФ (Боуэн, 1951; Моралес и Ботс — Morales a. Botts, 1952), Боуэн и Кервин — Bowen a. Kerwin, 1955).

Особенно интересные данные были получены за последнее время Ченсом и его сотрудниками (Ченс и Джобсиз — Chance a. Jöbsis, 1959; см. также Ченс и Блачевский — Chance a. Blatscheffsky, 1958; Ченс и Виллиамс — Chance a. Williams, 1955; Ченс и Коннели — Chance a. Connelly, 1957). Ченс разработал очень точную спектрофотометрическую и флуорометрическую методику исследования живого мышечного волокна в процессе его сокращения. Принцип этого метода основан на резком усилении окислительных процессов при образовании в клетке АДФ (в результате распада АТФ). Повышение концентрации АДФ в ткани вызывает окисление соответствующего количества восстановленной формы кодегидразы (пиридиннуклеотида). Последнее изменение тотчас же регистрируется с помощью соответствующих оптических приборов, отмечающих изменение характера флуоресценции или спектров поглощения.

Измерения, проведенные Ченсом и его сотрудниками, не позволили обнаружить при одиночных сокращениях мышечных волокон образования АДФ в количествах, эквивалентных количеству произведенной работы.

В этих методически в высшей степени совершенных исследованиях в проверке и подтверждении нуждаются, по-видимому, лишь расчеты, имеющие целью показать невозможность доста-

точно быстрого ресинтеза АТФ при одиночном сокращении. Как бы то ни было, в настоящее время внимание многих исследователей концентрируется на вопросе, каким образом при работе мышц или ритмическом сокращении различных клеточных органелл движения используется энергия, аккумулированная в фосфатных связях АТФ.

Современная биохимия и биофизика вплотную уже подошли к изучению на молекулярном уровне тех изменений, которые претерпевает контрактильная белковая система при сокращении мышцы.

На стр. 17 уже упоминалось, что данные электронномикроскопического исследования позволяют считать весьма вероятным, что взаимодействие АТФ с актомиозиновой системой приводит к возникновению совершенно своеобразной реакции — проникновению системы актиновых нитей в систему миозиновых нитей. Этот тип почти неизученных еще химических реакций, очевидно, может возникать лишь между высокомолекулярными соединениями волокнистого строения. Такое своеобразное «скольжение» актиновых нитей вдоль миозиновых нитей, начинающееся после воздействия на контрактильную систему АТФ, сопровождающееся выполнением механической работы, по-видимому, связано с превращением высокоэргических связей между актином и миозином в обычные более бедные энергией связи. Высокоэргические связи между актиновыми и миозиновыми нитями образуются, по Веберу, за счет макроэргических связей АТФ в начале рабочего цикла.

Как же можно себе представить механизм перемещения нитей актина вдоль нитей миозина в присутствии АТФ?

Вебер (1958) пытается объяснить это явление следующим образом: предполагается, что цепь реакций начинается с присоединения либо АДФ, либо H_3PO_4 к определенным химическим группировкам актина в результате его взаимодействия с АТФ:

1) актин + АТФ → актин ~ PO_3H_2 + АДФ или
2) актин + АТФ → актин ~ АДФ + H_3PO_4.

Здесь происходит реакция подобная той, с которой начинаются, например, первые этапы синтеза жирных кислот при взаимодействии ацетата с АТФ:

АТФ + ацетат → АМФ ~ ацетат + ФФ (пирофосфат).

Далее допускается замена фрагмента АТФ (АДФ или PO_3H_2) в комплексе с актином на соответствующую функциональную группировку миозина:

Р ~ актин + миозин → актин ~ миозин + Р,

где Р — АДФ или H_3PO_4.

При этом освобождается неорганический фосфат (или АДФ) и возникает высокоэргическая связь между актином и миозином.

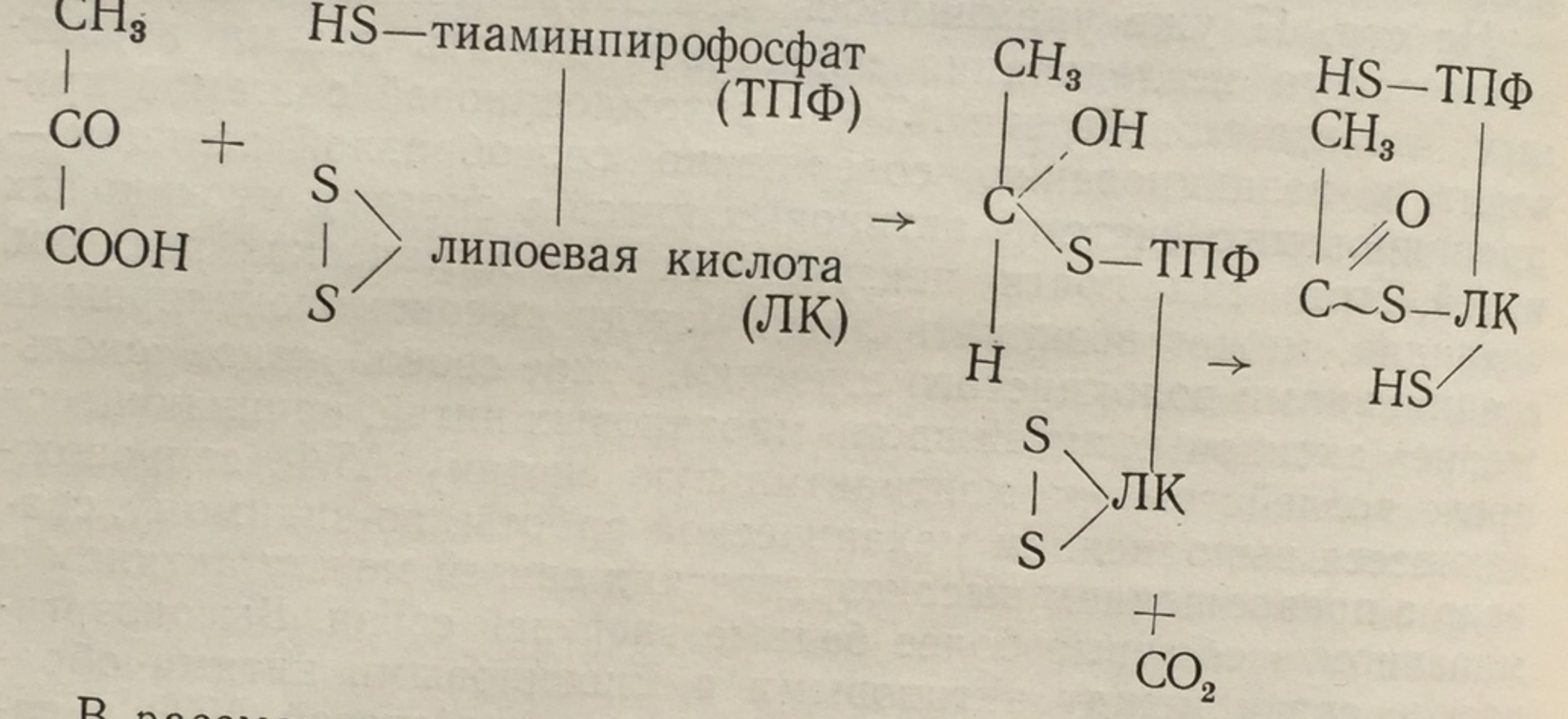
Аналогичная реакция происходит и при синтезе жирных кислот:

ацетил ~ АМФ + КоА → ацетил ~ КоА + АМФ

После образования высокоэргического соединения актин ~ миозин автоматически начинается реакция: актин ~ миозин → актин миозин → актин миозин → актин миозин, т. е., другими словами, цепочка актина начинает последовательно перемещаться от первой функциональной группы миозина ко второй, третьей и может быть к четвертой. При этом допускается, что различ-

ные функциональные группы миозиновых нитей, реагирующие с актином, расположены линейно. Это приводит к тому, что мицеллы актина в ходе реакции начинают перемещаться вдоль миозиновых нитей.

Можно думать, по аналогии с образованием ацилкоэнзимов А при взаимодействии ацилпирофосфатов с HS — КоА, что и высокоэргическая связь между актином и миозином образуется за счет одной из сульфгидрильных групп (первой) миозина. Что же касается механизма скольжения или перемещения мицелл актина вдоль цепочки миозина, от одной его функциональной группировки к другой, то прототипы такого рода реакций также, по-видимому, известны. Нечто подобное происходит, например, при окислительном декарбоксилировании у некоторых микроорганизмов пировиноградной кислоты с образованием в конечном счете ацетил-коэнзима А:



В рассматриваемой теории мышечного сокращения наиболее важным является положение, согласно которому расщепление АТФ приводит к активации функциональных групп контрактильной системы и образованию между актином и миозином высокоэргической связи.

В результате перемещения актиновых мицелл вдоль миозиновых нитей выполняется механическая работа, свободная энергия системы уменьшается и, следовательно, высокоэргические связи между миозином и актином, образовавшиеся в начале цикла, в конце сократительного процесса превращаются в обычные и притом легко диссоциирующие связи.

Как уже указывалось выше, механизм активации контрактильного белка АТФ можно представить себе двояким образом:

1) АТФ + белок $\rightleftarrows$ белок ~ Р + АДФ и
2) АТФ + белок $\rightleftarrows$ белок ~ АДФ + Ф

С помощью метода изотопной индикации оказалось возможным выяснить, какой из этих двух механизмов активирования актина имеет место в действительности. Нетрудно видеть, что если верно уравнение 1-е, то тогда при добавлении меченой АДФ^{32} к раствору актина в присутствии АТФ должно образоваться некоторое количество меченой АТФ (АТФ^{32}), поскольку реакция протекает как слева направо, так и справа налево.

Если же верно уравнение 2-е, т. е. если в равновесии с АТФ и белком находится неорганический фосфат, то в этом случае

меченая АТФ^{32} может образоваться лишь при внесении в систему $H_3PO_4^{32}$, но не АДФ^{32}.

Исследования Кошленд (Koshland, 1954), Ульбрехт и Ульбрехт (Ulbrecht a. Ulbrecht, 1957) показали, что реакция протекает по уравнению 1. Одновременно было установлено, что реакция фосфорилирования актина (АТФ + актин $\rightleftarrows$ актин $\sim$ Р + + АДФ) в актомиозиновой системе протекает со скоростью, превышающей в 2—5 раз (в некоторых случаях в 25 раз) скорость расщепления АТФ актомиозином с образованием АДФ и H_3PO_4.

Эти данные приводятся в табл. 2, заимствованной из работы Ульбрехт и Ульбрехт (1957).

Таблица 2

Обмен Р^{32} между АДФ^{32} и АТФ в присутствии Mg
(в μМР$\times$мг белка$^{-1}\times$ мин.$^{-1}$)

	Температура (t°)	Ионная сила раствора	Скорость обмена	Скорость расщепления	Отношение скорости обмена к скорости расщепления
Актомиозин	20	0,3	0,1	0,01	10
	0	0,08	0,026	0,005	5
	0	0,4	0,023	0,001	23
Фибриллы	0	0,1	0,01	0,012	0,8
	0	0,4	0,01	0,001	10

Интересно, что в присутствии Ca^{++} (вместо Mg^{++}) обмен радиофосфатом между АДФ^{32} и АТФ вовсе не происходит. АТФ в присутствии Ca^{++} расщепляется, но не вызывает сокращения актомиозина. Таким образом, в среде, содержащей Ca^{++}, расщепление АТФ миозином происходит как бы на «холостом ходу».

В опытах Ульбрехт и Ульбрехт было установлено, что образование АТФ^{32} из АДФ^{32} за счет миокиназного и фосфокреатинфосфокиназного действия не превышало 5—10% от общего количества обменивающегося Ф^{32}. Все же нельзя не обратить внимания на необходимость строжайшего контроля при проведении и интерпретации подобного рода опытов.

То обстоятельство, что первой фазой активации актомиозиновой системы является активирование актина, а не миозина вытекает из опытов по изучению обмена АДФ^{32} в миофибриллах, из которых был предварительно экстрагирован миозин, но в которых сохранился актин. Такие, не содержащие миозина фибриллы продолжают образовывать АТФ^{32} из АДФ^{32} почти с такой же скоростью, как и фибриллы, не подвергавшиеся экстракции. Все же нельзя не обратить внимания на известную шаткость этой аргументации, поскольку в миофибриллах после экстракции

миозина остаются и другие не идентичные актину белковые вещества.

Очищенный миозин (L-миозин Вебера), хотя и расщепляет АТФ, но не индуцирует реакции обмена фосфатом между АДФ^{32} и АТФ. Однако и препараты очищенного актина не индуцируют этой реакции. Более того, этой способности лишены и препараты «искусственного» актомиозина. Таким образом, требуются дальнейшие исследования для решения вопроса о действительном механизме взаимодействия АТФ с актомиозином с образованием высокоэргической формы контрактильного белка.

В новых представлениях особенно важным является положение, согласно которому смысл взаимодействия АТФ с мышечным белком сводится к образованию «возбуждений» или «высокоэргической» формы актомиозина, способной к самопроизвольному сокращению.

Зарядка актомиозина энергией за счет АТФ происходит с этой точки зрения, однако, не в фазе расслабления, которое возможно без какого бы то ни было внесения энергии извне, но в момент активации мышцы перед сокращением, т. е. во время перехода ее из невозбужденного (неэластического) состояния в состояние возбужденное, при котором мышца приобретает способность к самопроизвольному сокращению.

Напомним здесь, что такое представление развивалось уже ранее одним из нас (см. И. И Иванов, 1950 в).

Несколько иные представления о механизме взаимодействия миозина с актином на молекулярном уровне развивает Сент-Дьердьи. С воззрениями этого автора читатель может познакомиться по его оригинальным работам и широко известным монографиям (см. список литературы).

Обратимся теперь к вопросу, что же в настоящее время известно относительно механизма расслабления мышцы после сокращения?

Поскольку со времени первых публикаций Сент-Дьердьи и его школы было известно, что АТФ вызывает лишь сокращение мацерированного мышечного волокна или актомиозиновых нитей, которые остаются в укороченном состоянии и после отмывания АТФ, возникло представление, что для расслабления мышечного волокна требуются особые условия и, в частности, наличие так называемого «фактора расслабления», отсутствующего в отмытых волокнах.

Это представление, как казалось, получило серьезное подтверждение в работах Марша (Marsh, 1951) и Бендалл (Bendall 1952). Последнему автору удалось показать, что сократившееся под влиянием АТФ мышечное волокно, находящееся под нагрузкой, переходит в расслабленное состояние и растягивается до исходной длины покоя (или даже несколько больше) при внесении в систему свежеполученного мышечного экстракта, содержащего особый фактор, называемый обычно фактором Марша —

Бендалла. Этот фактор получил также название фактора расслабления. Следует, однако, сразу же подчеркнуть, что называть его так, по-видимому, не было достаточных оснований.

В действительности фактор Марша — Бендалла лишь изменяет (обычно снижает) АТФ-азную активность актомиозина. Поскольку снижение АТФ-азной активности актомиозина фактором Марша — Бендалла не сопровождается исчезновением пластифицирующего или размягчающего действия АТФ на живую мышцу, этот фактор можно назвать также размягчающим или пластифицирующим фактором. В его присутствии сокращение мышечного волокна под влиянием АТФ становится невозможным, но мышца при этом не теряет своей эластичности. Напомним здесь, что при отсутствии в мышце АТФ или при резком снижении концентрации АТФ мышца переходит в ригидное состояние, как это наблюдается, например, при трупном окоченении.

Механизм расслабления мышечного волокна после наступившего под влиянием АТФ сократительного акта нужно, по-видимому, рассматривать как часть единого двухфазного рабочего цикла. Действительно, рядом авторов (Ранни, 1954; Бендалл, 1953; И. И. Иванов и Г. П. Пинаев, 1957) было установлено, что сокращение находящегося под нагрузкой экстрагированного 50%-ным глицерином поперечнополосатого мышечного волокна при внесении в раствор АТФ может принимать при определенных условиях опыта характер как бы чрезвычайно замедленного во времени тетанического сокращения. Волокно вначале сокращается приподнимая груз, но затем в том же самом растворе утрачивает сократительную силу и возвращается под действием силы тяжести груза к исходной длине покоя. В некоторых случаях вслед за расслаблением может наступить и новое более слабое сокращение.

Описанный феномен может быть является своего рода моделью тетанического сокращения живого поперечнополосатого мышечного волокна и, во всяком случае, говорит о том, что расслабление мышечного волокна или, точнее, падение его сократительной силы возникает совершенно закономерно и автоматически после наступившего сокращения вне зависимости и не в результате изменения концентрации в окружающей среде каких-либо веществ (АТФ, фактора «расслабления», ионов солей и т. п.).

Невозможность наблюдать длительную серию чередующихся сокращений и расслаблений мацерированного мышечного волокна, находящегося под нагрузкой в растворе АТФ, KCl и $MgCl_2$, несомненно зависит от наступающего чисто механического повреждения волокна при каждом его растягивании (см. И. И. Иванов, 1950 а, б, в).

В несравненно более четкой форме возможность автоматической двухфазной деятельности клеточных органелл движения в присутствии АТФ можно наблюдать на тех или иных

глицериновых клеточных моделях, приготовленных по Гофман-Берлингу (клеточных трупах сперматозоидов, мерцательного эпителия, трипанозом и т. п.). В этих случаях попеременное сгибание и разгибание органеллы движения происходит с обычной для данного вида клетки скоростью и продолжается до тех пор, пока в растворе сохраняется известный избыток АТФ.

Все эти факты неопровержимо свидетельствуют о том, что расслабление органеллы движения является пассивным процессом, происходящим под влиянием упругих сил, развиваемых антагонистически действующим разгибателем. Наличие таких эластических разгибателей в самых разнообразных органеллах клеточного движения было установлено рядом авторов.

Нетрудно, однако, видеть, что такое быстрое возвращение в исходное состояние (состояние покоя) органеллы движения или сократившегося мышечного волокна под влиянием внешней силы (эластического разгибателя, силы тяжести груза, напряжения мышц антагонистов, эластического давления тех или иных растянувшихся при сокращении структур мышечного волокна, например дисков Z, и т. д.) возможно лишь при наличии следующих условий: 1) сила, развивающаяся при сокращении, должна резко и притом скачкообразно снижаться в момент полного сокращения и 2) способность к сокращению с прежней силой должна резко и внезапно скачкообразно восстанавливаться после расслабления сократительной органеллы до длины покоя.

Действительно, если принять, что сила сокращения убывает постепенно по мере укорочения органеллы движения, то в этом случае в определенный момент времени неизбежно должно установиться состояние равновесия между силой, под влиянием которой органелла сокращается, и силой эластической тяги антагониста разгибателя (или силой тяжести груза, если речь идет о сокращении мышечного волокна). Очевидно, периодическая двухфазная деятельность органеллы окажется при этом уже невозможной. Напомним здесь, что это представление было развито И. И. Ивановым в 1959 г. в докладе на IX Всесоюзном съезде физиологов, биохимиков и фармакологов.

Каков же вероятный конкретный механизм автоматического скачкообразного изменения сократительной силы органеллы движения во время различных фаз сократительного процесса?

В настоящее время на такого рода вопрос можно дать ответ, лишь вступив на шаткую почву научных спекуляций. Можно, например, исходить при этом из теории мышечного сокращения, сформулированной в общих чертах Вебером.

Согласно этой теории для возникновения тянущей силы в мышечном волокне должны произойти два процесса: во-первых, присоединение АТФ к актину и, во-вторых, образование макроэргической связи между актином и миозином (см. стр. 62). Оба эти процесса протекают, очевидно, во времени. С момента образования высокоэргического комплекса актин~миозин совершенно

автоматически возникает в высшей степени своеобразный цепной процесс, являющийся непосредственной причиной сокращения. В результате скольжения актиновых нитей вдоль миозиновых нитей совершается механическая работа, причем в процессе сокращения комплекс актин-миозин несколько раз скачкообразно проходит через ряд энергетических уровней, начиная с наиболее высокого, когда актомиозиновый комплекс связан посредством макроэргической связи, и кончая состоянием, при котором актин и миозин удерживаются связями, на образование которых затрачивается значительно меньшее количество энергии. Таким образом, актомиозиновый комплекс в конце сократительного процесса обладает значительно меньшей работоспособностью, чем в начале рабочего цикла.

Можно также сказать, что к концу сокращения автоматически снижается тянущая (или подъемная) сила волокна.

Таким образом, после наступившего сокращения волокна, т. е. после скачкообразного перехода актомиозинового комплекса на низкий энергетический уровень, становится вполне возможным извлечение системы актиновых нитей из системы миозиновых нитей под влиянием тянущей силы эластических разгибателей или тяжести подвешенного к мышце груза.

С момента достижения длины покоя, когда система актиновых нитей занимает исходное положение по отношению к системе миозиновых нитей, так же автоматически создаются условия для нового активирования актина за счет его взаимодействия с АТФ, повторного образования высокоэргической формы актомиозина и, следовательно, повторения всего сократительного цикла.

Из этих представлений, как нам кажется, вытекают следующие два положения: во-первых, нужно считать, что тетаническое сокращение мышечного волокна является совершенно закономерной и естественной реакцией волокна на взаимодействие его с определенной порцией АТФ. По-видимому, при каждом раздражении мышцы с нерва освобождается или приобретает способность вступать в реакцию с актомиозином такое количество АТФ, которое может вызвать целую серию подергиваний. Продолжительность тетануса должна, таким образом, зависеть от количества мобилизованной нервным импульсом АТФ.

С развиваемой точки зрения вполне понятно и различие между механизмом тетанического и тонического сокращения. Последний вид сокращения, как это неоднократно отмечалось, отличается от тетануса тем, что вследствие повышенной вязкости белков, входящих в состав миофибрилл гладких мышц, сократительный процесс развивается в чрезвычайно замедленном темпе. Еще более медленно протекает процесс расслабления гладкой мускулатуры, возникающий под действием внешних и внутренних сил, стремящихся вернуть мышцу к длине покоя. При достаточной вязкости «легкорастворимых» белков

миофибрилл, связанных в единый функциональный комплекс с актомиозином, расслабление гладкой мышцы может настолько растянуться во времени, что практически это будет равносильно развитию запирательной функции. Очевидно также, что в фазе тонического противодействия растяжению после сокращения (в состоянии запирательного действия), так же как и в фазе медленно протекающего расслабления (точнее, растяжения) контрактильный белок — актомиозин — находится на низком энергетическом уровне.

Второе важное положение, вытекающее из рассмотренной теории, заключается в том, что актомиозин может существовать в двух формах: в виде комплекса, содержащего высокоэргические связи, и в форме комплекса, не содержащего макроэргических связей. В первой модификации актомиозин находится в состоянии сокращения (изотонического или изометрического), во вторую он переходит после сокращения. Кстати сказать, подобная формулировка была высказана еще несколько лет тому назад И. И. Ивановым (1950 в) (см. также Тономура, Мацумия, Китагава и Морита, 1957).

Третье положение, по существу развиваемое в новой теории мышечного сокращения, сводится к отрицанию ведущей роли в сократительном акте ферментативной (АТФ-азной) активности миозина. Действительно, как мы видели, образование высокоэргической формы актомиозина, способной к выполнению механической работы, связано с взаимодействием АТФ не с миозином, но с актином. Здесь можно отметить, что эту же мысль, правда в несколько иной форме, развивали еще в 1950 г. Штрауб и Фейер (Straub a. Feuer). По мнению последних авторов, расщепление АТФ под влиянием аденозинтрифосфатазы (миозина), вопреки существующим представлениям, не может иметь непосредственного отношения к изменению механо-эластических свойств мышцы при ее сокращении. Подробнее с представлениями Штрауба по этому вопросу читатель может ознакомиться по оригинальной работе указанных авторов (см. также обзорную статью И. И. Иванова в ежегоднике «Успехи биологической химии», 1950, т. I).

Все же нельзя не отметить, что развиваемое представление, очевидно, не охватывает всей проблемы в целом, поскольку биологическая роль и значение аденозинтрифосфатазной активности миозинового компонента сократительной системы остается при этом необъясненной. Это замечание относится в полной мере и к теории мышечного сокращения Вебера (1958).

Действительно, согласно теории Вебера, процессы, происходящие при мышечном сокращении, можно изобразить двумя следующими балансовыми уравнениями

$$\text{актин} + \text{миозин} + \text{АТФ} \longrightarrow \text{актин} \sim \text{миозин} + \text{АДФ} + H_3PO_4 \text{ и}$$

$$\text{актин} \sim \text{миозин} \longrightarrow \text{актин} + \text{миозин} + \text{работа}.$$

На основании изложенных выше экспериментальных данных (см. стр. 63), Вебер принимает, что процесс начинается с образования высокоэргической формы актина. Что же касается АТФ-азной активности миозина, то она вообще не фигурирует во всех последующих рассуждениях. Однако игнорировать наличие АТФ-азной активности у миозина при построении любой теории мышечного сокращения едва ли было бы правильно. Необходимость сохранения АТФ-азной активности миозина для образования активного комплекса миозина с актином отмечалась неоднократно. Выше также указывалось, что, согласно данным самого же Вебера, актомиозин обладает контрактильными свойствами лишь в том случае, если его АТФ-азная активность достаточно выражена.

РОЛЬ ФАКТОРА РАССЛАБЛЕНИЯ МАРША В МЫШЕЧНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

Вернемся теперь к вопросу, какова же в свете всех имеющихся в настоящее время данных роль фактора Марша — Бендалла в мышечной деятельности?

Если исходить из представлений о существовании определенной связи между величиной АТФ-азной активности актомиозина и его способностью «заряжаться» энергией за счет распада АТФ, то функцию фактора Марша — Бендалла можно связывать с регуляцией им как ферментативной (АТФ-азной) активности актомиозина, так и способности актомиозина превращаться под влиянием АТФ в активную форму. По-видимому, этот фактор способствует лишь созданию оптимальных условий для двухфазной деятельности мышечного волокна или клеточной органеллы движения. При отсутствии фактора М-Б (или при инактивации его ионами Са) мышечное волокно или органелла движения (жгутик, ресничка и т. п.) энергично и максимально сокращаются. Однако последующего расслабления в этом случае не наступает, так как волокно сохраняет высокую АТФ-азную активность и способность к взаимодействию с АТФ с образованием активной «эластической» формы актомиозина. При этом контрактильный белок, по-видимому, остается на одном из энергетических уровней, на котором он может еще оказывать противодействие силам, стремящимся вернуть сократившееся волокно или органеллу движения в исходное состояние покоя.

Напротив, при чрезмерно высокой концентрации фактора М-Б АТФ-азная активность (и, возможно, способность к образованию высокоэргической формы актомиозина) контрактильной органеллы или мышечного волокна оказывается уже в начале сократительного цикла настолько сниженной, что развиваемое за счет взаимодействия с АТФ напряжение не может преодолеть сопротивления разгибателей — антагонистов (или груза, приложенного к мышце); сокращения в этом случае вообще не наступает.

Из всего сказанного следует, что двухфазная деятельность органов и органелл движения, осуществляемая за счет энергии расщепления нуклеозидтрифосфатов, возможна лишь при определенных условиях: достаточной аденозинтрифосфатазной активности сократительного белка и достаточно высокой, но не чрезмерной упругости антагонистов — разгибателей или других клеточных структур, выполняющих ту же функцию. В свою очередь АТФ-азная активность контрактильного белка регулируется фактором Марша — Бендалла, активность которого может почти мгновенно изменяться в широком диапазоне при связывании или освобождении в мышечном волокне ионов Mg и, особенно, Ca.

Наиболее важным здесь является положение, согласно которому при определенном соотношении между величиной АТФазной активности актомиозина (которая зависит от ряда условий — концентрации фактора М-Б, ионов Ca и т. д.) и силой, противодействующей сокращению волокна (или органеллы движения), начинается ритмическая деятельность вследствие автоматического скачкообразного снижения при сокращении тянущей силы контрактильного белка. Весьма вероятно, что это изменение тянущей силы сократительного белка на разных стадиях сократительного цикла связано со скачкообразным изменением и его АТФ-азной активности (И. И. Иванов и Г. П. Пинаев, 1957).

Таков, по-видимому, в общих чертах механизм ауторегуляции сложнейшего процесса двухфазной сократительной деятельности самых различных органов и органелл движения.

Здесь же можно напомнить, что близкие представления о механизме действия фактора М-Б развивают Гассельбах и Вебер. По их мнению, действие фактора М-Б сводится к своеобразной сенсибилизации актомиозина по отношению к АТФ и ионам магния: концентрации АТФ, вызывающие в отсутствие фактора сокращение отмытого мышечного волокна в присутствии фактора оказываются уже «сверхоптимальными». В результате этого наступает угнетение АТФ-азной активности актомиозина и способности мышечного волокна к сокращению. Механизм этого «сенсибилизирующего» действия фактора М-Б на мышечное волокно остается, однако, еще неясным.

Новейшими исследованиями Портцель (цит. по Веберу, 1958) показано, что фактор М-Б связан с мышечными гранулами, (см. гл. I). Это положение наглядно демонстрируется следующими диаграммами (рис. 8).

Как уже упоминалось, одной из наиболее интересных особенностей в действии фактора М-Б является его способность изменять свою активность в присутствии ионом Mg и Ca. Ионы Mg активируют фактор М-Б, ионы Ca оказывают на его активность резко угнетающее влияние. Другими словами, в присутствии ионов Ca угнетающее действие фактора М-Б на АТФазную активность миозина не проявляется (рис. 9).

Из графика хорошо видно, что в присутствии $4 \cdot 10^{-3}$ М Ca^{++} активность фактора М-Б практически полностью подавляется и мышечное волокно сокращается в его присутствии, не подвер-

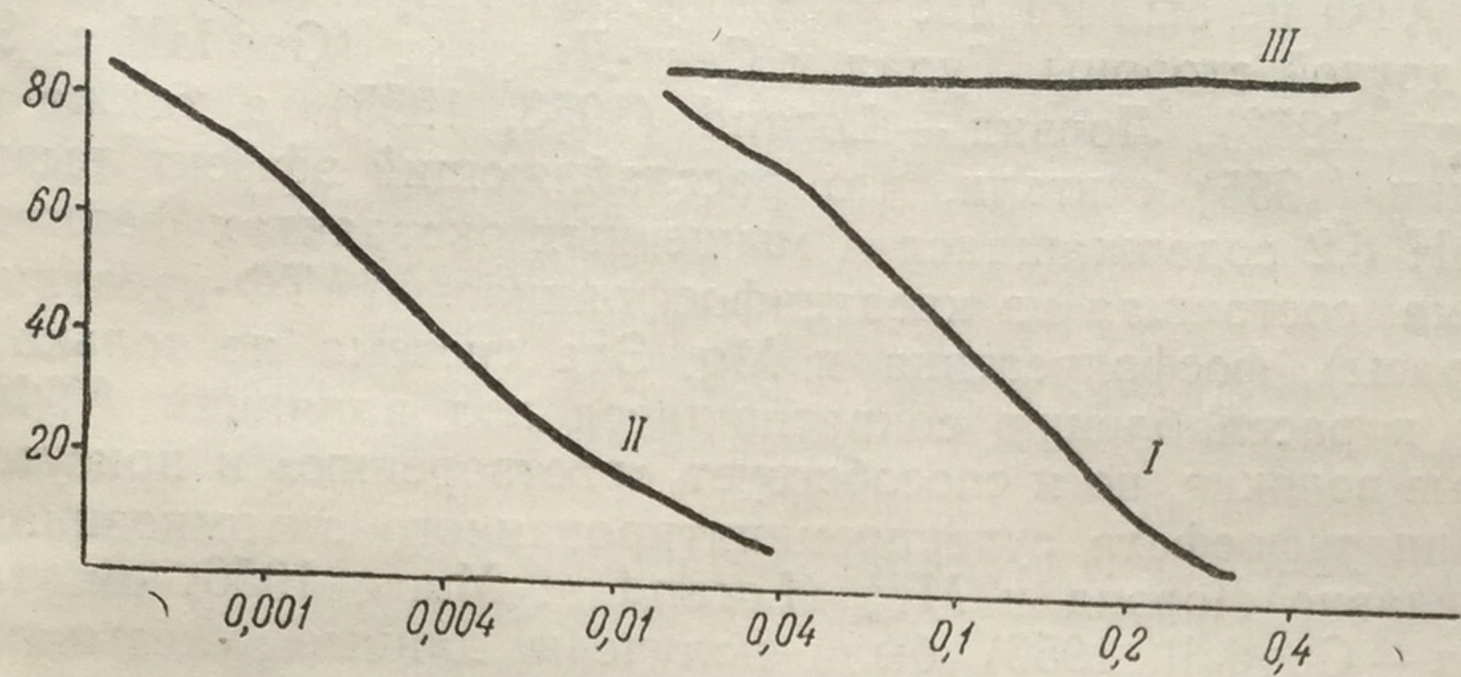


Рис. 8. Изменение АТФ-азной активности мышечных волокон в присутствии:

мышечного экстракта, содержащего гранулы (кривая *I*), изолированных из экстракта гранул (кривая *II*), экстракта, освобожденного центрифугированием от гранул (кривая *III*). По оси ординат — скорость расщепления АТФ в процентах от таковой в контрольном опыте (без добавления экстрактов). По оси абсцисс — концентрация в процентах добавленных белков. Ионная сила — 0,14; pH — 7; АТФ—$4 \cdot 10^{-3}$М (по Веберу, 1958).

гаясь обратному расслаблению, совершенно так же, как и в контрольном опыте. В то же время в среде, не содержащей ионов Са, сокращение находящегося под достаточной нагрузкой мы-

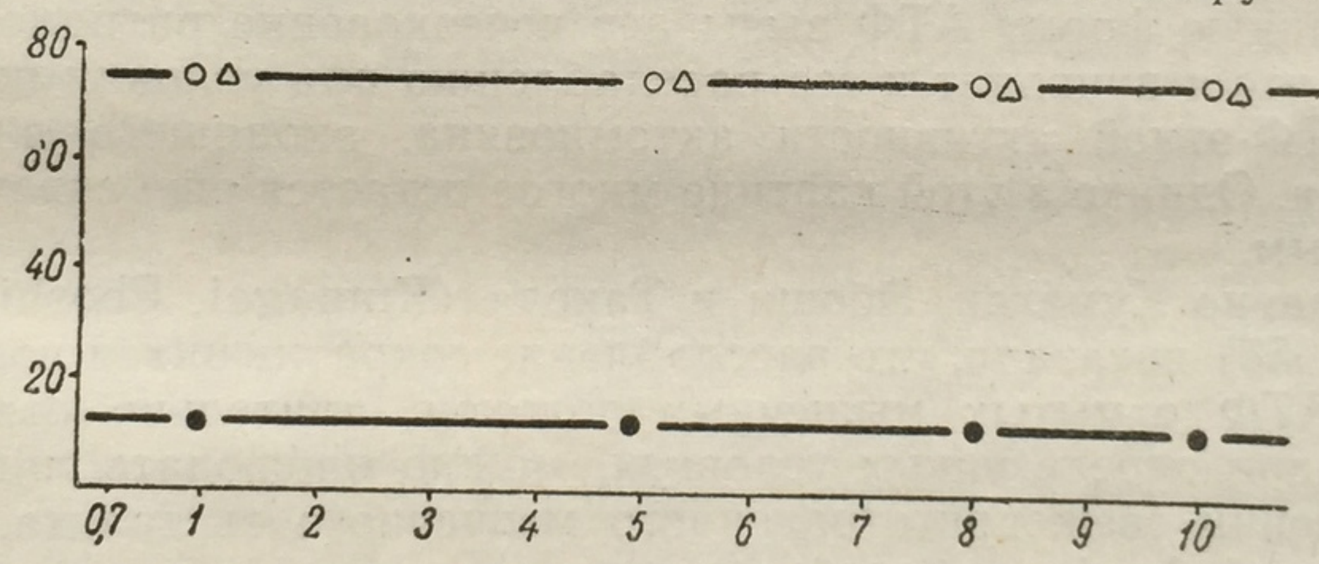


Рис. 9. Влияние ионов Са на активность фактора Марша—Бендалла (МБ), по Портцел.

По оси ординат — укорочение мышечного волокна в процентах. По оси абсцисс — концентрация АТФ в m М. ○ — укорочение в контрольном опыте (без добавления фактора МБ); Δ — укорочение в присутствии фактора МБ + $4 \cdot 10^{-3}$ М Са; ● — укорочение в присутствии фактора МБ без добавления Са.

шечного волокна в присутствии фактора М-Б становится невозможным.

Но что же представляет собой фактор М-Б в химическом отношении? Нужно признать, что довольно многочисленные исследования, поставленные с целью выяснения его природы, не внесли пока полной ясности в этот вопрос.

Бендалл (1954) идентифицировал этот фактор с миокиназой. Однако механизм расслабляющего действия миокиназы на отмытое мышечное волокно, находящееся под нагрузкой, в присутствии АТФ не был им достаточно удовлетворительно разъяснен.

С другой стороны, Гудал и Сент-Дьердьи (Goodall a. Szent-Györgyi, 1953), Лорэнд — Lorand (1953, 1955), а также Сент-Дьердьи (1955) считали, что расслабляющий эффект вызывает при pH 6,2 содержащаяся в мышечных экстрактах ферментная система, состоящая из креатинфосфокиназы (АТФ-креатин-фосфоразы), фосфокреатина и Mg. Эта система не только приводит к расслаблению сократившиеся под влиянием АТФ мышечные волокна, но и способствует «растворению» в присутствии аденозинтрифосфата суперпреципитированного актомиозина.

Недавно Лорэнд и Мус (Lorand a. Moos, 1956; см. также Гудал — Goodall, 1956) были получены данные, указывающие на возможность расслабления сократившихся отмытых мышечных волокон и при воздействии энолфосфопировиноградной кислоты при pH 7,0 в присутствии соответствующей фосфоразы, прочно связанной с белковыми структурами волокна.

Сопоставляя все эти факты, можно было бы прийти к выводу, что в механизме действия фактора М-Б решающую роль играет рефосфорилирование аденозиндифосфата, связанного с определенными функциональными группировками молекулы актомиозина. Это рефосфорилирование АДФ в АТФ может быть достигнуто различными путями. Превращение связанной формы АДФ в связанную форму АТФ вызывает исчезновение ригидности волокна, что и приводит к его расслаблению при условии подавления АТФ-азной активности актомиозина, входящего в состав волокна. Однако в этой картине многое остается еще совершенно не ясным.

Недавно Кумагаи, Эбоши и Такеда (Kumagai, Eboshi a. Takeda, 1955) показали, что расслабление сократившихся под влиянием АТФ отмытых мышечных волокон, длительно сохранявшихся при определенных условиях, можно наблюдать лишь при добавлении свежеприготовленного мышечного экстракта, но не очищенной фосфокиназной системы или препаратов миокиназы.

Если это так, то тогда вполне вероятным становится предположение, что фактор, вызывающий расслабление миофибрилл, лишь присутствует в недостаточно очищенных препаратах фосфокиназы и миокиназы, но по своей химической природе не идентичен этим ферментам.

В 1958 г. Портцель опубликовал работу, в которой полностью отрицается идентичность фактора М-Б фосфоразной системе. Этот автор в убедительной форме показал, что фосфокреатин в присутствии креатинфосфокиназы вызывает расслабление мышечных моделей, сократившихся под влиянием АТФ, лишь в том случае, если концентрация АТФ внутри мышечных волокон доходит в результате энзиматического ресинтеза АТФ до сверх-

оптимальных значений. Если же для опыта используются достаточно тонкие мышечные фибриллы (с радиусом около 1 μ), то такие фибриллы сокращаются под влиянием АТФ одинаково хорошо как в отсутствие, так и в присутствии фосфокреатин-креатинфосфокиназной системы.

Напротив, способность таких фибрилл расщеплять АТФ и сокращаться в присутствии АТФ тотчас же полностью исчезает при добавлении выделенного из мышц в активной форме фактора расслабления Марша.

Это делает невероятным предположение об идентичности фактора расслабления фосфокреатин-креатинфосфокиназной системе и очевидно другим подобным рефосфорилирующим АДФ системам.

Таким образом, вопрос о механизме действия фактора М-Б и его химической природе (т. е. принадлежности к той или иной группе белковых веществ) еще ждет своего окончательного решения.

ГЛАВА IV

НЕКОТОРЫЕ ДАННЫЕ О МЕХАНОХИМИИ И ТЕРМОДИНАМИКЕ МЫШЕЧНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

Вопрос о механизме превращения энергии, освобождающейся при биохимических реакциях в механическую работу сокращения мышцы, издавна привлекал внимание широких кругов специалистов.

До опубликования в 1939—1945 гг. широко известных исследований советской и венгерской школы биохимиков внезапное сокращение мышечного волокна при раздражении с нерва обычно связывалось с изменением поверхностного натяжения на определенных участках клеточной мембраны, периодическим изменением осмотического давления, быстрым набуханием и отбуханием коллоидов плазмы вследствие перезарядки частиц белка и т. д.

При этом почти во всех случаях первопричиной наступающих коллоидно-химических изменений в белках плазмы считалось образование кисло- или щелочно-реагирующих продуктов обмена (например, молочной кислоты, H_3PO_4, аммиака и т. д.).

Все эти представления, по крайней мере в их первоначальной формулировке, в настоящее время должны быть признаны слишком примитивными. В свете современных данных о механизме сокращения фибриллярных контрактильных белков мышц и подвижных клеток, феномен сократимости миофибрилл и других клеточных органелл движения не может быть сведен к упомянутым выше простейшим физико-химическим процессам. После опубликования, начиная с 1939 г., ряда работ В. А. Энгельгардта

и М. Н. Любимовой, Сент-Дьердьи, Штрауба, Вебера и Гоффман-Берлинга стало несомненным, что сократимость самых различных органелл движения обусловлена наличием в них особых контрактильных белков (или, точнее, системы из двух белков), обладающих способностью к изменению своего физического состояния в результате химического взаимодействия с богатыми энергией соединениями типа аденозинтрифосфата. Контрактильные белки, как оказалось, являются в то же время ферментами, способными расщеплять АТФ и ряд его пуриновых и пиримидиновых аналогов с отщеплением H_3PO_4 и освобождением большого количества энергии.

Это открытие положило начало новому направлению в биохимии, которое В. А. Энгельгардт предложил назвать механохимией мышц. Однако до последнего времени оставался неясным в высшей степени важный вопрос, потребляется ли энергия, освобождающаяся при расщеплении АТФ, в фазе сокращения мышцы или в фазе расслабления. Рассмотрим этот вопрос более подробно.

Теоретически говоря, механизм взаимодействия АТФ с контрактильным белком мышц (актомиозином) можно было бы себе представить двояким образом.

1) АТФ присоединяется к актомиозиновым мицеллам, которые в невозбужденной мышце находятся как бы в растянутом состоянии (по сравнению с их натуральной длиной). Присоединение АТФ каким-то образом нейтрализует силы, удерживающие актомиозиновые мицеллы в этом состоянии, в результате чего происходит их сокращение (подобно тому как любое каучукоподобное растянутое тело сокращается после устранения причины, препятствующей его укорочению). С этой точки зрения аденозинтрифосфат не должен подвергаться расщеплению в фазе сокращения мышцы, так как сокращение является самопроизвольным процессом, связанным со снижением свободной энергии системы.

Напротив, возвращение мышцы в расслабленное состояние может произойти лишь при условии внесения в систему необходимого количества энергии извне, без чего невозможно и растяжение любого сократившегося каучукоподобного тела.

Таким образом, по мнению сторонников этой теории, известной под названием термокинетической теории мышечной деятельности [1], присоединение АТФ к контрактильному белку вызывает его сокращение, но это сокращение не сопровождается расщеплением аденозинтрифосфата.

Гидролиз АТФ, протекающий по уравнению: $АТФ + H_2O \rightarrow АДФ + H_3PO_4$, начинается после сокращения, и освобождаю-

[1] Существует ряд вариантов термокинетических теорий мышечной деятельности. Подробно этот вопрос рассматривается в обзорной статье В. И. Агола (1955)

щаяся энергия используется только для зарядки контрактильного механизма, т. е. для приведения мышцы в состояние готовности к работе (Подробнее см. Morales, 1959).

2) Другое представление сводится к тому, что сокращение мышечного волокна не является самопроизвольным процессом, но осуществляется за счет энергии, освобождающейся при расщеплении актомиозином АТФ.

С этой точки зрения гидролиз АТФ, очевидно, происходит в фазе не расслабления, а сокращения мышцы. Без ферментативного расщепления АТФ сокращение мышцы невозможно. Расслабление мышцы, напротив, не требует притока энергии извне, т. е. не связано с использованием энергии тех или иных химических процессов, протекающих в мышечной ткани.

Нетрудно видеть, что основное отличие представлений, развиваемых в различных вариантах термокинетических теорий мышечной деятельности от теорий, связывающих использование энергии расщепления АТФ с фазой сокращения, сводится к допущению, что контрактильные белки обладают свойствами каучукоподобных полимеров; последние построены из длинных, гибких, обладающих большой степенью подвижности, способных к изменению своей пространственной конфигурации, макромолекул.

Такое представление могло казаться тем более вероятным, что важнейший компонент контрактильного белкового комплекса — миозин — действительно является фибриллярным белком, т. е. белком, частицы которого построены из множества длинных полипептидных цепочек, расположенных в мышечном волокне более или менее параллельно. Из этого факта был сделан вывод, что в основе феномена сокращения мышечного волокна могут лежать процессы, связанные с изменением конфигурации гибких полипептидных цепочек, подобно тому как укорочение каучукоподобных тел обусловлено свободным тепловым движением отдельных звеньев длинных макромолекул полимеров.

В недавнее время были даже созданы модели контрактильных белков (Качальский — Katchalsky, 1951, 1954), способные при изменении реакции среды (pH) изменять свою длину. Эти модели состоят из длинных макромолекул полимеров, в составе которых имеются периодически повторяющиеся ионогенные группы. Изменение конфигурации макромолекул в результате перезарядки ионогенных групп под влиянием сдвигов в pH во внешней среде может быть источником механической работы, которую можно сравнивать с работой сокращения мышечного волокна.

В таких полиэлектролитных системах осуществляется, как и в живой мышце, прямой переход химической энергии в механическую работу без промежуточного образования теплоты.

Однако между сокращением таких моделей и мышечного волокна имеется, по-видимому, лишь только внешняя аналогия.

Интерес представляет также теория мышечного сокращения, высказанная еще в 1929 г. Мейером (Meyer). К этому времени было уже известно, что миозин относится к числу фибриллярных белков и была сформулирована цвиттерионная теория строения протеинов.

Исходя из представлений, развиваемых в цвиттерионной теории строения белка, Мейер предположил, что в невозбужденной мышце в полипептидной цепочке миозина диссоциированы лишь карбоксильные ионогенные группы (например, COOH-группы дикарбоновых аминокислот). Таким образом, в этой форме макромолекула миозина имеет характер своеобразного аниона, в составе которого имеется множество периодически повторяющихся ионогенных групп, несущих одноименные заряды. Полипептидная цепочка, естественно, должна при этом находиться в более или менее распрямленном состоянии (рис. 10).

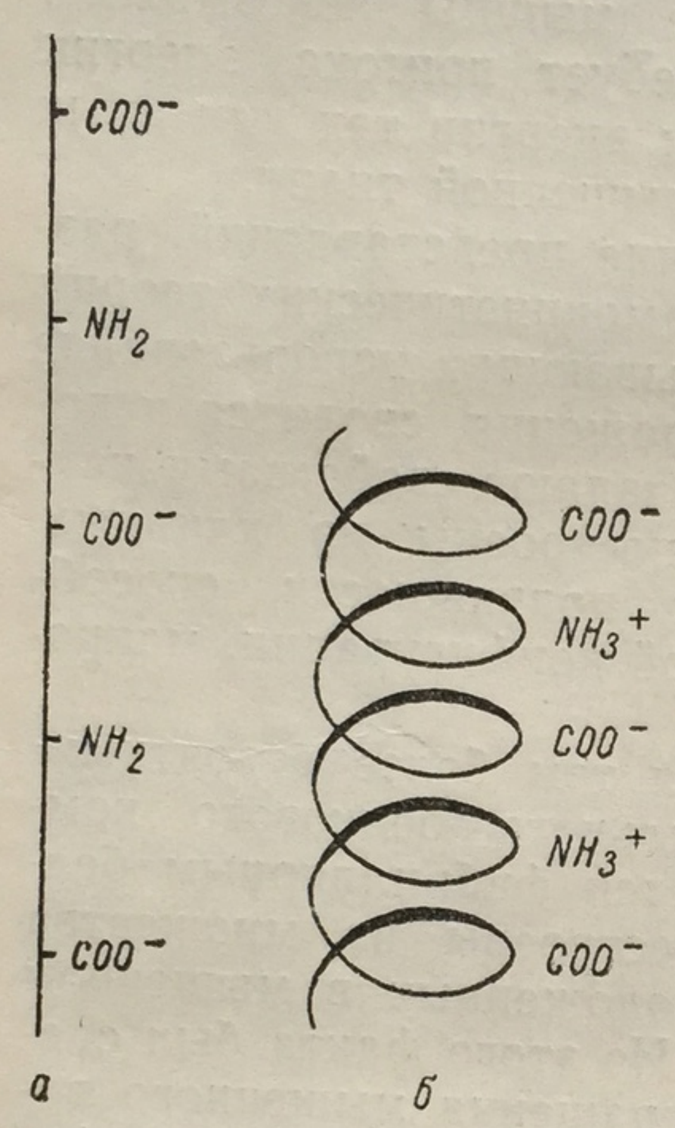


Рис. 10. Сокращение миозиновой нити по Мейеру.

а—несокращенная полипептидная цепочка миозина; *б* — та же полипептидная цепочка в сокращенном состоянии.

При возбуждении мышцы, по мнению Мейера, в результате образования в мышце кисло-реагирующих продуктов обмена, частицы миозина приобретают цвиттерионное строение:

$$R\begin{cases}COO\\NH_2\end{cases} + H^+ \rightarrow R\begin{cases}COO^-\\NH_3^+\end{cases}$$

Ионы водорода связываются при этом свободными аминогруппами, например, аминогруппами остатков диаминомонокарбоновых кислот. В результате этого полипептидная цепочка миозина подвергается деформации вследствие возникновения электростатических сил притяжения между разноименными электрическими зарядами. Таким образом, перезарядка контрактильного белка приводит, по Мейеру, к повышению эластичности мышцы в момент возбуждения и сокращению мышечных волокон.

Заметим здесь, что в теории Мейера, как и в различных вариантах термокинетических теорий мышечной деятельности, сокращение миофибрилл связывается с изменением внутренней структуры контрактильного мышечного белка, точнее с изменением пространственной конфигурации полипептидных цепей миозина.

Забегая несколько вперед, необходимо отметить, что, к сожалению, это по меньшей мере совершенно недоказанное положение с некоторыми вариациями фигурирует во многих руководствах по мышечной физиологии и в настоящее время.

Особенно важно, что все теории мышечной деятельности, рассматривающие сокращение миофибрилл как самопроизвольный процесс, не требующий притока энергии извне, основаны на предпосылке об изменении конфигурации полипептидных цепочек миозина при сокращении мышцы.

Напротив, теории, рассматривающие сокращение мышцы как процесс, неразрывно связанный с использованием химической энергии обменных процессов, не ограничены никакими представлениями о внутреннем механизме изменения физического состояния контрактильного белка. В этом отношении они имеют определенное преимущество перед термокинетическими теориями мышечной деятельности.

Посмотрим теперь, какая же из двух рассматриваемых теорий находится в лучшем соответствии со всей суммой известных в настоящее время фактов и экспериментальных данных.

Можно, по-видимому, считать, что подавляющее большинство фактов подтверждает правильность представления о невозможности самопроизвольного мышечного сокращения без расщепления АТФ. Напомним некоторые из них.

1) Данные, полученные с помощью рентгеновского структурного анализа. Согласно исследованиям Эстбери (Astbury, 1947) и вопреки более ранним наблюдениям Бема и Вебера (Boehm u. Weber, 1931, 1932), сокращение живых мышц не сопровождается такими изменениями рентгеновских дифракционных спектров, которые могли бы соответствовать тому типу складывания полипептидных цепочек, при котором происходит изменение расстояний между отдельными повторяющимися аминокислотными остатками (периодов идентичности). По Эстбери, рентгенограммы как расслабленных, так и сокращенных мышц Mytilus, а также m. sartorius лягушки в состоянии йодацетатной контрактуры относятся к одному и тому же α-типу. Другими словами, периоды идентичности в полипептидных цепочках миозина — белка, образующего основную массу контрактильной субстанции поперечнополосатого мышечного волокна, при сокращении мышцы не изменяются.

Как было отмечено одним из нас раньше (И. И. Иванов, 1950, а и б), эти данные говорят о том, что сокращение мышцы не является следствием интрамолекулярного сжатия полипептидных цепочек и не имеет по своей природе ничего общего с механизмом эластического сокращения растянутых каучукоподобных тел или белков кератино-эпидермально-фибриногенной группы.

В самое последнее время аналогичные соображения были высказаны Вебером (1958).

Но если двухфазная мышечная деятельность не связана с изменением пространственной конфигурации полипептидных цепочек миозина, то тогда необходимо отвергнуть и предположение о возможности сокращения миофибрилл без использования энергии макроэргических связей АТФ или ее пуриновых и пиримидиновых аналогов (см., однако, Morales, 1959).

2) Данные, полученные при помощи электронной и интерференционной микроскопии. Как уже указывалось на стр. 17, Хансон и Хаксли (1955), сочетая метод электронномикроскопического исследования с фракционным экстрагированием миофиблиллярных белков, показали, что в расслабленных миофибриллах миозин и актин локализованы в различных структурах саркомера. При сокращении миофибрилл наблюдается как бы вхождение актиновой системы в систему миозиновых нитей (см. рис. 3 и 4).

Другими словами, укорочение поперечнополосатых миофибрилл, по данным электронномикроскопического исследования, связано с своеобразным скольжением актиновых нитей вдоль миозиновых нитей. Здесь мы как бы возвращаемся к предположению, высказанному более 10 лет тому назад Сент-Дьердьи, согласно которому актомиозин образуется в мышце из миозина и актина лишь в момент ее сокращения.

Особенно интересным является то обстоятельство, что сокращение миофибрилл и по данным электронномикроскопических исследований не связано со «складыванием» полипептидных цепочек миозина или изменением их длины. Таким образом, и с этой стороны термокинетические теории мышечной деятельности не получают поддержки.

Вебер (1958) считает даже возможным говорить о том, что экспериментальные данные Хаксли и Хансона означают в сущности конец эластических (или термокинетических) теорий мышечной деятельности. Впрочем, не следует думать, что в этом отношении достигнута уже исчерпывающая ясность. Исследования, проведенные с применением методов электронной и фазово-контрастной микроскопии при всем их неоспоримом значении, нуждаются все же в дальнейшем развитии, детализации и обобщении. Не вполне ясным остается и вопрос о тонком механизме взаимодействия актиновых и миозиновых нитей и сокращения лишенной поперечной исчерченности гладкой мускулатуры, в частности, гладкой локомоторной мускулатуры беспозвоночных.

Предложенная Вебером (1958) теория, объясняющая механизм скольжения актиновых нитей вдоль миозиновых нитей при сокращении миофибрилл, нуждается в конкретизации и экспериментальном обосновании. Нельзя игнорировать и критику данных Хансена и Хаксли со стороны Шьёстранда (1960), Ходжа (1959) и других авторов, отказывающихся рассматривать перемещение в саркомерах тонких (актиновых) нитей вдоль тол-

стых (миозиновых) нитей как физико-химическую основу феномена мышечного сокращения.

3) Данные миотермических исследований. Миотермические исследования также не подтверждают представления о сокращении мышцы как об укорочении растянутого эластического тела, сокращающегося за счет изменения внутренней энергии.

Если бы это было так, следовало бы ожидать значительного потребления химической энергии в фазе расслабления мышцы для ее зарядки.

В действительности теплообразование при двухфазной мышечной деятельности, по характеру которого можно следить за ходом дающих энергию химических процессов, протекает совершенно иначе.

Как известно, (см. стр. 43) при сокращении мышцы в аэробных условиях теплота развивается как в фазе сокращения, так и в фазе отдыха.

Теплота отдыха освобождается в течение нескольких минут после наступившего расслабления (теплота отдыха или отставленная теплота). В атмосфере кислорода количество теплоты, выделяющейся в фазе отдыха (отставленное теплообразование), соответствует общему количеству теплоты, выделившейся в фазе сокращения.

Таким образом, теплота отдыха — это теплота окисления продуктов анаэробного распада энергетических веществ, исчезающих в фазе сокращения.

Но мышца может сокращаться с последующим расслаблением и в атмосфере азота. В этом случае теплота отдыха снижается до очень низкой величины. Теплообразование при этом отражает ход анаэробных восстановительных реакций, которыми можно пренебречь при дальнейших рассуждениях.

Подъем теплообразования, наблюдающийся во время расслабления (при анаэробном сокращении), как показывают специальные исследования, может иметь реальное значение лишь в том случае, если речь идет о расслаблении мышцы, сократившейся под нагрузкой. При этом количество освобождающейся теплоты в точности соответствует количеству исчезнувшей кинетической энергии падающего груза. Другими словами, в момент расслабления в анаэробных условиях не наблюдается никакого теплообразования, связанного с осуществлением тех или иных химических реакций. Более того, по данным Хилла (1949), в момент расслабления неотягощенной грузом мышцы образования тепла вообще не удается зарегистрировать.

Все эти факты не соответствуют представлению о необходимости затраты химической энергии в фазе расслабления мышцы для ее «зарядки».

Имеются и другие данные, подтверждающие такое заключение. Теплота, образующаяся в фазе сокращения, как оказы-

вается, состоит из двух частей: 1) теплоты активации, выделяющейся до начала сокращения. Количество этой теплоты только не на много менее теплоты укорочения и 2) теплоты укорочения, которая развивается во время укорочения мышцы и пропорциональна величине укорочения. Таким образом, общее количество освобождающейся при мышечном сокращении энергии равно сумме: теплота активизации + теплота укорочения + выполненная работа. Высокое значение теплоты активизации, выделяющейся до начала сокращения, также плохо совместимо с представлением о сокращении мышцы как о самопроизвольном процессе.

Наконец, ряд данных, подтверждающих положение о необходимости затраты химической энергии в фазе сокращения, а не расслабления мышцы, был получен при изучении хода теплообразования при растяжении как сокращенной, так и расслабленной мышцы. На этой последней серии исследований мы, однако, не можем здесь подробнее останавливаться и отсылаем читателей, которые пожелали бы ближе ознакомиться с полученными данными, к соответствующим обзорным статьям (см., например, сводку Бухталя, Свенсмарк и Розенфалк, 1956).

Резюмируя все сказанное, мы приходим к выводу, что подавляющее большинство установленных и проверенных фактов позволяет считать экспериментально обоснованными лишь те теории мышечной деятельности, которые основаны на предположении о невозможности самопроизвольного сокращения мышечных волокон без затраты химической энергии.

В последующих разделах книги авторы и будут исходить из этого положения при изложении отдельных вопросов. Здесь только надо особенно подчеркнуть, что, говоря о невозможности самопроизвольного сокращения мышечного волокна без затраты химической энергии (расщепления АТФ), мы оставляем в стороне вопрос о моменте взаимодействия АТФ с актомиозином.

Выше уже указывалось (см. гл. III), что это взаимодействие, по-видимому, происходит в момент активации мышцы. Именно в этот момент наблюдается усиленное теплообразование, и актомиозин переходит в способное к сокращению состояние.

Расслабление мышцы — возвращение ее к исходной длине покоя — несомненно является чисто пассивным процессом (см. гл. III).

Особо необходимо остановиться на работах Нидэм и сотрудников — Дэнти, Клейнцеллер, Лоуренс, Миал, Нидэм (Dainty, Kleinzeller, Lawrence, Miall, Needham, 1944) — по определению двойного лучепреломления миозина в потоке (см. стр. 12).

Результаты этих исследований, по мнению ряда авторов (Блюм и Моралес — Blum a. Morales, 1933; Иордан и Остер — Jordan a. Oster, 1948), подтверждают предположение о возможности изменения конфигурации полипептидных цепочек миозина

при взаимодействии мицелл этого белка с АТФ. Действительно, по данным Нидэм и сотрудников, ДЛП растворов миозина в 0,6 М KCl резко снижается при добавлении АТФ. Именно эти наблюдения позволили говорить о миозине как «о сократимом ферменте».

При этом в большинстве случаев молчаливо допускалось, что речь здесь должна идти о настоящем укорочении полипептидных цепочек миозина под влиянием АТФ, связанном с изменением периодов идентичности (расстояний между отдельными повторяющимися атомными группировками в полипептидных цепях).

По поводу этих экспериментальных данных необходимо, однако, заметить следующее: прежде всего, в работе Нидэм и сотрудников использовался не чистый миозин, но миозин с большей или меньшей примесью актомиозина. Между тем, по данным Сент-Дьердьи, выраженное ДЛП наблюдается в растворах именно актомиозина. ДЛП растворов актомиозина резко снижается при добавлении АТФ. С другой стороны, растворы чистого миозина в присутствии АТФ не изменяют ДЛП (см. Тономура и соавт., 1957; М. Б. Калмакарова, 1958).

По данным Нода и Мариама (Noda a. Maruyama, 1958, 1959), изменение (снижение) ДЛП актомиозина в 0,6 М растворе KCl в присутствии АТФ следует трактовать как результат диссоциации актомиозина на его компоненты (миозин и актин). Этой же точки зрения придерживаются Лаки и сотр. (Laki a. o., 1952), Снелман и Эрдош (Snellman a. Erdös, 1949) и Вебер (1956).

Таким образом, в свете имеющихся в настоящее время экспериментальных данных рассматривать изменение ДЛП актомиозина в солевых растворах с высокой ионной силой при добавлении АТФ как проявление сократимости молекул миозина — нет достаточных оснований.

Реакция с АТФ приводит действительно к изменению формы и размеров мицелл контрактильного белка актомиозина, но в основе этого процесса лежит не складывание полипептидных цепочек (изменение их конфигурации), но совершенно другой механизм (диссоциация актомиозина).

В заключение этой главы нельзя не отметить, что в самое последнее время вопрос о механизме сокращения других типов контрактильных приборов клетки неожиданно значительно усложнился. Была опубликована работа (Гоффман-Берлинг — Hoffmann-Berling, 1958), проведенная на Vorticella (сувойка), результаты которой позволили автору высказать положение о существовании особого механизма клеточного сокращения, принципиально отличающегося от механизма сокращения мышечного волокна.

Эти данные будут подробнее рассмотрены в гл. VII.

ГЛАВА V

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ МЫШЦ

В этой главе приводятся некоторые сведения о химическом составе мышц в связи с их функцией.

Приводимые данные, однако, никоим образом не могут заменить тех более подробных описаний биохимических особенностей мышц различных типов, которые можно найти в специальных руководствах и биохимических справочниках.

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ПОПЕРЕЧНОПОЛОСАТЫХ МЫШЦ

Химический состав отдельных гистологических элементов мышц изучен еще недостаточно полно. В табл. 3 приводятся данные, характеризующие содержание ряда веществ в поперечнополосатых мышцах в целом.

Таблица 3

Химический состав мышц млекопитающих

Наименование веществ	Содержание в %
Вода	72—80
Органические вещества	20—26
Белки	16,5—20,9
Гликоген	0,3—0,9 (иногда до 3)
Фосфатиды	0,2—0,3 и выше
Холестерин	около 0,2
Креатин, креатинфосфат	0,2—0,55
Креатинин	0,003—0,005
Аденозинтрифосфорная кислота	0,25—0,4
Карнозин	0,2—0,3
Карнитин	0,02—0,05
Ансерин	0,09—0,15
Пуриновые основания	0,07—0,23
Свободные аминокислоты	0,1—0,7
Мочевина	0,04—0,14
Инозит	~ 0,01
Молочная кислота	0,01—0,02
Неорганические соли	1,0—1,5
в том числе:	
Na	0,32
K	0,08
Ca	0,007
Mg	0,02
Cl	0,07
$P(H_3PO_4)$	0,045

Из таблицы видно, что мышечная ткань (скелетная мускулатура) взрослых животных состоит по весу почти на $^4/_5$ из воды. Около $^1/_5$ массы мышцы приходится на долю органиче-

ских веществ, главным образом, белков. Помимо белков, в состав органических веществ, входят гликоген, липиды, экстрактивные вещества, соли органических и неорганических кислот и некоторые другие химические соединения.

Как видно из табл. 3, наиболее важной составной частью мышцы, не считая воды, являются белки.

Мышечные белки представляют большой интерес в особенности по той причине, что они обладают свойствами, обусловливающими способность мышц к сокращению.

Мышечные белки

Мышечные белки могут быть разделены на ряд фракций, более или менее резко отличающихся друг от друга по растворимости в воде и солевых средах с различной ионной силой.

Если мышечную кашицу (измельченную на холоду мышцу) многократно экстрагировать 0,6 М, или еще более концентрированными растворами KCl (особенно в присутствии АТФ), то при этом в раствор удается перевести практически все мышечные белки, за исключением нерастворимых белков стромы[1]. Если полученный таким образом экстракт подвергнуть затем диализу, то при достаточном снижении ионной силы раствора (до 0,03 М KCl) при pH 7,0 в осадок выпадают практически полностью нерастворимые при низкой ионной силе миофибриллярные белки (белки актомиозинового комплекса). В растворе остаются лишь легко растворимые саркоплазматические белки, а также некоторое количество недавно открытых, легко растворимых в солевых средах с низкой ионной силой миофибриллярных белков. Процентное содержание всех этих групп белковых веществ в поперечнополосатой мускулатуре млекопитающих (кролика) приведено в табл. 4.

Однако мышечные белки, извлекаемые из мышечной ткани 0,6 М KCl, могут быть разделены на отдельные фракции и с помощью других методов, например, электрофореза.

В последнем случае белки мышц удается разделить на следующие основные фракции: 1) белки актомиозинового комплекса — актомиозин, миозин, актин; к ним близки мало изученные белковые вещества — контрактин Дюбюиссона, Y — протеин того же автора и некоторые другие, обнаруживаемые обычно на электрофореграммах в очень незначительном количестве; 2) белки гетерогенной миогеновой группы; 3) миоальбумин, присутствующий в белках мышц взрослых животных в незначительном количестве, но занимающий видное место среди белков эмбриональной мышечной ткани; 4) с помощью более слож-

---

[1] Белки стромы переходят почти нацело в раствор лишь при обработке ткани 30%-ным раствором мочевины, подщелоченным 2% NaOH, вызывающим деполимеризацию белков.

Таблица 4

Фракционный состав белков скелетных мышц млекопитающих

(в процентах белкового азота фракции к общему азоту мышечной ткани *A* и в процентах белкового азота фракции к общему белковому азоту *B*)

Характеристика белков	*A*	*B*
Саркоплазматические белки, растворимые в солевых средах с низкой ионной силой (0,03 M KCl) . . .	до 30	до 30
Белки миофибрилл, растворимые в солевых средах с высокой ионной силой (0,4—0,6 M KCl)	около 40	около 45
Белки миофибрилл, растворимые в солевых средах с низкой ионной силой (0,03 M KC)	» 10	» 13
Белки стромы	» 10	» 12
Небелковый азот	» 10	—

ных приемов (электрофореза и других) можно изолировать также водорастворимые или, точнее, растворимые в солевых средах с низкой ионной силой миофибриллярные белки (*A*-протеин, *X*-протеин Сент-Дьердьи, Хаксли и Хансона, Δ-протеин Амберсона и соавторов, водорастворимый белок Цао, *T*-фракцию Иванова и сотрудников и т. д.).

Отдельные фракции мышечных белков (например, фракцию саркоплазматических белков) можно в свою очередь расфракционировать на ряд более узких подфракций. Подробнее этот вопрос рассматривается дальше.

Познакомимся с составом и свойствами отдельных наиболее важных фракций белков поперечнополосатых мышц взрослых животных.

Саркоплазматические белки, растворимые в солевых средах с низкой ионной силой

Белки, входящие в состав саркоплазмы, принадлежат к числу протеинов, растворимых в солевых средах с низкой ионной силой (например, 0,03 M KCl).

Если саркоплазматические белки, полученные а) путем отпрессовывания мышечного сока из мышечной кашицы под давлением 50—60 атм, б) путем экстракции мышечной кашицы солевыми растворами с низкой ионной силой (0,03 M KCl) или в) остающиеся в растворе после длительного диализа против 0,03—0,04 M раствора KCl веберовского мышечного экстракта подвергнуть дальнейшему диализу против чистой дистиллированной воды, то при снижении концентрации соли (KCl) ниже

0,005 М начинает осаждаться белок, названный Вебером глобулином X. В растворе остается миоген, точнее белки миогеновой группы, и небольшое количество миоальбумина.

В настоящее время известно, что миоген не является однородным белком, но, как следует из работ Барановского (Baranowscki, 1939, 1949), Дитеш (Disteche, 1948), Мейергофа и Бек (Meyerhof a. Beck, 1944), М. Ф. Гулого и П. Д. Дворниковой (1954) и др., представляет собой гетерогенную белковую систему. В. А. Энгельгардт (1941) обнаружил у миогена ферментативную (альдолазную) активность. Барановский показал, что миоген может быть разделен путем высаливания сернокислым аммонием на миоген *А*, кристаллизующийся в форме гексогональных призм, и миоген *Б*, получающийся преимущественно в форме асимметрических длинных пластинок. В состав миогена *А* входят альдолаза, α-глицерофосфатаза, ряд дегидрогеназ (дегидраз), в частности, дегидрогеназа фосфоглицеринового альдегида, триозофосфатизомераза и другие ферменты. О свойствах и особенностях миогена *Б* в настоящее время известно немного. Таким образом, термин «миоген», а также термины «миоген *А*» и «миоген *Б*» являются в сущности собирательными понятиями, объединяющими целый ряд белковых веществ, которые могут быть отделены друг от друга теми или иными способами.

Особенно успешным оказалось разделение легко растворимых саркоплазматических белков на ряд фракций с помощью электрофореза. Согласно литературным данным (Конелл — Conell, 1953; Джекоб — Jacob J., 1947; Тосчи и Мариани — Toschi, Mariani, 1953, 1954) в мышечных экстрактах с ионной силой 0,15 при свободном электрофорезе выявляется три группы водорастворимых белков, каждая из которых состоит из нескольких компонентов (*m, n, l* — первая группа, K_1 и K_2 — вторая группа, *l, sp, h* — третья группа).

Пики *m, n* и *l* соответствуют белкам, обладающим альдолазной и триозофосфатдегидразной активностью, с фракциями K_1 и K_2 связана фосфорилазная активность, *h* — миоальбумин.

В настоящее время нельзя еще с полной определенностью утверждать, каким компонентом «легкорастворимых» белков, выявляемых с помощью метода свободного электрофореза, соответствуют пятна, получающиеся при электрофорезе мышечной плазмы на бумаге. Получить ответ на этот вопрос стремились в своей работе Тосчи и Мариани (1953, 1954).

Однако необходимо отметить, что полученные ими данные были подтверждены другими авторами только частично.

Обычно при электрофорезе на бумаге мышечного сока или мышечных экстрактов с низкой ионной силой, полученных из мышц взрослых животных, на бумажной полосе появляются три пятна. Одно из них, несомненно, соответствует миоальбумину (*h*), что может быть легко установлено путем одновременного

нанесения на «старт» раствора чистого миоальбумина. В особенно большом количестве миоальбумин можно обнаружить на электрофореграммах белков мышечного сока скелетных мышц эмбрионов и новорожденных животных.

Два других пятна на бумажной полосе соответствуют фракциям *l*, *m*, *n*, K_1 и K_2, выявляемым при свободном электрофорезе. Однако идентифицировать отдельные пики внутри каждой фракции при бумажном электрофорезе не представляется возможным.

Глобулином *X* Вебер предложил в 1933 г называть ту фракцию мышечных белков, которая выпадает в осадок при снижении ионной силы раствора в результате длительного диализа до $\mu = 0{,}005$[1]. При повышении концентрации солей осадок может быть вновь переведен в раствор только частично. Так, например, при pH 5,8 в раствор с ионной силой, равной 0,3, удается перевести только около 40% осадка. Несомненно, это объясняется спонтанной денатурацией части наиболее лабильного белка во время диализа.

По данным Вебера (1934), на долю глобулина *X* приходится около 20% всего белкового азота мышечной ткани. В отпрессованном соке поперечнополосатых мышц, по данным Вебера, подтвержденным в нашей лаборатории В. В. Кадыковым, содержится около 12—13% водонерастворимых глобулинов.

Несмотря на то, что с момента описания Вебером этого белка прошло уже более 25 лет, о природе и свойствах его до сих пор известно немного.

Установлено, что глобулин *X* может оставаться в растворе (например, KCl) при ионной силе не ниже 0,005. По данным Вебера и Мейера (Weber u. Meyer, 1933), глобулин *X* обладает незначительной нормальной вязкостью, не обнаруживает двойного лучепреломления в потоке, не образует нитей при вдувании солевого раствора его через капилляр в чистую воду. Изоэлектрическая точка его близка к 5, молекулярный вес (средний) глобулина *X* по Дейтике (Deuticke, 1934) — 140 000—180 000. На электрофореграммах «глобулин X» входит вместе с другим «легкорастворимыми» белками в состав миогеновой фракции. При электрофорезе мышечных экстрактов с низкой ионной силой не было обнаружено специального компонента, соответствующего веберовскому глобулину *X* (Бейли, 1959; И. И. Иванов, В. В. Кадыков, В. А. Юрьев, 1959).

Конелл (1953) разделил электрофоретическим путем *X*-глобулиновую фракцию мышц трески на три компонента.

Из приведенных данных следует (см. также Дюбюиссон, 1954), что глобулин *X* не является индивидуальным белком, но

---

[1] Напомним здесь, что $\mu = \frac{1}{2} \sum c \cdot v^2$, где c — концентрация ионов, v — валентность.

представляет собой смесь различных белковых веществ со свойствами глобулинов. Эта точка зрения нашла себе полное подтверждение в работе И. И. Иванова, В. В. Кадыкова и В. А. Юрьева (1959). Как оказалось, белки поперечнополосатых мышц, выпадающие при диализе в осадок (т. е. глобулин *X* Вебера), распределены в различных фракциях мышечной плазмы и высаливаются при различных концентрациях сернокислого аммония. Если мышечную плазму подвергнуть дробному высаливанию с помощью $(NH_4)_2SO_4$ (степень насыщения от 30 до 70%), то при этом получаются отдельные фракции, в которых нетрудно обнаружить после растворения их в солевых средах и последующего диализа против чистой воды наличие более или менее значительного количества нерастворимого в дистиллированной воде протеина, т. е. глобулина *X* по Веберу.

Наибольшее количество белка, обладающего характером глобулина, осаждается в зоне 40—50% насыщения сернокислым аммонием. Глобулины высаливаются из мышечного сока при всех концентрациях $(NH_4)_2SO_4$ в смеси с другими белками.

Абсолютное количество высаливаемого глобулина увеличивается с повышением концентрации высаливающей соли, но относительное его содержание в осадке при этом уменьшается. Наиболее высоко процентное содержание глобулинов в осадке при 30%-ном насыщении. Таким образом, глобулин *X* Вебера не имеет четко выраженной зоны высаливания.

Данные о неоднородности глобулина *X* подтверждаются и при помощи электрофоретического анализа. При электрофорезе на бумаге мышечного сока взрослых кроликов отчетливо выявляются три основные фракции, не считая слабо выраженного четвертого пятна или полосы на «старте», по-видимому, соответствующего части наиболее легко денатурируемых белков или мельчайших частиц морфологических структур клеток. При диализе мышечного сока против дистиллированной воды и последующего отделения выпавшего осадка ни один из вышеуказанных пиков не исчезает. Электрофореграммы до и после удаления водонерастворимых глобулинов почти не отличаются друг от друга. Это, очевидно, говорит о том, что глобулину *X* Вебера не соответствует какая-либо определенная фракция на электрофореграмме мышечных белков, растворимых в средах с низкой ионной силой. Вместе с тем надо отметить, что при электрофоретическом исследовании той части выпавшего в осадок после диализа водонерастворимого глобулина, которую удается снова перевести в раствор с pH 5,8 и ионной силой 0,3, выявляется, не считая слабого пятна на «старте», широкий пологий двугорбый пик. Характер и вид этого пика также позволяют считать, что водонерастворимый глобулин мышц не является электрофоретически однородным белком, но, по-видимому, представляет собой смесь различных близких по своей электрофоретической подвижности белковых веществ. Следует также подчеркнуть,

что «глобулин *X*», возможно, имеет еще более сложный фракционный состав, поскольку электрофоретически можно исследовать лишь ту часть этого белка, которая не подвергается денатурации во время диализа.

Таким образом, на основании как литературных, так и собственных экспериментальных данных, мы приходим к выводу, что глобулина *X* как индивидуального белка, очевидно, не существует. Белок, описанный Вебером под названием «глобулин *X*», представляет собой в действительности смесь ряда глобулинов с различными физико-химическими свойствами.

В состав этих глобулинов входит и некоторое количество белков, отличающихся от истинных глобулинов своей растворимостью в полунасыщенном растворе сернокислого аммония.

Интересно, что количество водонерастворимых глобулинов в мышечной ткани меняется в онтогенезе. Так, в мышечной плазме эмбрионов и новорожденных крысят количество этих наиболее лабильных и легко подвергающихся спонтанной денатурации белковых фракций значительно выше, чем в мышцах взрослого животного. Эти данные отображены ниже.

Содержание глобулинов в мышечном соке поперечнополосатых мышц кролика (в %) от общего содержания белка в исследуемом соке (по И. И. Иванову, В. В. Кадыкову и В. А. Юрьеву)

Взрослые	13
Новорожденные	35
Эмбрионы (25-дневные)	42

Мышечный сок мускулатуры сердца (взрослого животного) содержит большее количество глобулинов (около 20%), чем поперечнополосатые мышцы того же животного. В соке, отпрессованном из гладкой мускулатуры (желудка), содержание глобулинов подвержено большим колебаниям (от 15 до 35%).

Что касается растворимого в дистиллированной воде миоальбумина (Бейт-Смит — Bate Smith, 1937), то этот белок также изучен еще недостаточно. Есть указания, что мышечный миоальбумин идентичен альбумину сыворотки крови (Гитлин, Накасато, Ричардсон — Gitlin, Nakasato, Richardson, 1955).

Содержание миоальбумина в поперечнополосатых мышцах взрослых животных очень невелико. По данным Джекоб (1947) в белках саркоплазмы на долю миоальбумина приходится около 8,5%. Однако, как было показано Дюбюиссоном (1950), Джекоб (1947, 1948), Крепакс (1951, 1952), И. И. Ивановым, В. А. Юрьевым, В. В. Кадыковым и др. (1956), а также Б. С. Касавиной и Ю. М. Торчинским (1956), содержание миоальбумина в скелетных мышцах оказывается резко повышенным на ранних стадиях онтогенеза. При исследовании мышечной плазмы эмбрионов и новорожденных кроликов методом электрофореза на электрофореграммах чрезвычайно отчетливо выступает полоса, соответствующая пику *h*, т. е. миоальбумину.

Точно так же быстро двигающаяся миоальбуминовая фракция присутствует в значительном количестве и в экстрактах из гладкой тонической мускулатуры (Дюбюиссон, 1950; Крепакс, 1951; И. И. Иванов и В. Д. Блохина, 1955).

Подытоживая наши знания о белковых веществах саркоплазмы мышечных волокон, можно сказать, что на долю этих белков в поперечнополосатой мускулатуре теплокровных животных приходится не более 25—30% всей массы мышечных протеинов. Однако данные, приводимые различными авторами, значительно между собой расходятся. Так, по Веберу, в поперечнополосатой мускулатуре содержится до 38% водорастворимых белков. Сюда, несомненно, попадают и водорастворимые белки миофибрилл; по даным Хеландера (Helander, 1957), на долю саркоплазматических белков в скелетных мышцах кролика приходится около 24%; по Хансен и Хаксли —34% (по-видимому, здесь также речь идет о всей сумме водорастворимых белков мышц); по Хассельбах и Шнейдер — около 28%; по нашим данным —27—28%.

Причина столь резкого расхождения между данными отдельных авторов, несомненно, объясняется чисто методическими моментами.

Безусловно, нельзя ставить знак равенства между саркоплазматическим и водорастворимыми белками (точнее, белками, растворимыми в солевых средах с низкой ионной силой), поскольку в настоящее время установлено, что в миофибриллах также присутствуют «водорастворимые» белки, более или менее прочно связанные с белками актомиозинового комплекса.

Принятое ранее подразделение саркоплазматических белков на миоген, глобулин *X*, миоальбумин и белки-пигменты в значительной мере утрачивает смысл, поскольку существование глобулина X как индивидуального белка в настоящее время отрицается, а термин миоген является также собирательным понятием.

Этим и объясняется, что в современной литературе при описании белкового состава и особенностей различных типов мышц предпочитают говорить о содержании саркоплазматических и миофибриллярных белков. Каждая из этих групп в свою очередь может быть расфракционирована тем или иным способом, например посредством электрофореза, на ряд подгрупп, получивших то или иное буквенное обозначение и обладающих в ряде случаев той или иной ферментативной активностью.

Миофибриллярные белки

К этой группе принято относить хорошо изученные белки: миозин, актин, актомиозин и тропомиозин Бэйли. В последние годы было установлено существование и ряда других протеинов, входящих в состав миофибрилл, например, *A*-протеина Сент-

Дьердьи, экстрапротеина Виллафранка, Хаксли и Хансона, Δ-протеина Амберсона, водорастворимого миофибриллярного белка Цао, *T*-фракции И. И. Иванова и сотр. и т. д.

Как известно, первые данные о свойствах и методах получения мышечных белков были опубликованы Кюне (Kühne, 1864), А. Я. Данилевским (1881), Фюртом (Fürth, 1895) еще в конце прошлого века. Здесь нет надобности говорить о значении работ М. Д. Ильина (1900), Д. И. Кураева (1896), Халлибуртон (Halliburton, 1887) и других ученых в последующем развитии этого раздела биологической химии, поскольку эти исследования неоднократно освещались в отдельных статьях и монографиях (см., например, Г. Е. Владимиров, 1940; Т. Н. Евреинова, 1947; И. И. Иванов, 1950 (а и б). Детальное описание свойств важнейшего белка мышц — миозина — было предпринято Вебером и его сотрудниками в ряде работ, начиная с 1925 года. Хорошо известны также исследования в этой области Эдсала (Edsall, 1930), Муральта и Эдсала (Muralt, Edsall, 1930), Бейли (Bailey, 1937), Гринштейна и Эдсала (Greenstein, 1940), Г. Е. Владимирова (1940), М. Я. Галвяло (1940) и др.

Однако всеобщее внимание к миозину было привлечено лишь после опубликования широко известных работ В. А. Энгельгардта и М. Н. Любимовой (1939—1942).

Этим авторам удалось установить не только наличие у миозина АТФ-азной активности, но и существование реципрокного взаимодействия между миозином и АТФ, что позволило им впервые поставить на твердую почву вопрос о механизме использования химической энергии обменных процессов при мышечной деятельности и тем заложить основу учения о механохимии мышц.

В 1942—1945 гг. была опубликована серия чрезвычайно важных работ Сент-Дьердьи и его сотрудников. Большое значение имели исследования Штрауба (1942—1943), которому удалось выделить из мышц новый белок — актин, обладающий способностью соединяться с миозином с образованием актомиозина. Эти работы вызвали к жизни целую серию исследований.

Необходимо, однако, заметить, что не все опубликованные в этой области работы представляют неоспоримую ценность. Некоторые сообщения, например, данные о существовании так называемого «протина», не были впоследствии подтверждены в работах других авторов (см. А. В. Котельникова, 1948).

Миозин (*L*-миозин Вебера, β-миозин Дюбюиссона)

При непродолжительной (10-минутной) обработке измельченных поперечнополосатых мышц 0,5—0,6 М раствором KCl в экстракт переходит большое количество белка, называемого

миозином. С этой же целью было предложено использовать растворы NaCl и NH_4Cl с высокой ионной силой.

Такие экстракты, в основном состоящие из миозина, но содержащие примесь актомиозина, Сент-Дьердьи предложил называть миозином А.

Для получения чистого миозина (*L*-миозина Вебера, медленно осаждающегося в ультрацентрифуге) растворы миозина *A* разбавляют до ионной силы 0,3. При этом в осадок выпадает актомиозин (*S*-миозин Вебера, быстро осаждающийся в ультрацентрифуге), который отделяют и отбрасывают. Свободный миозин, остающийся в растворе, осаждают путем дальнейшего разбавления раствора. Наименьшую растворимость миозин обнаруживает в 0,025 М растворе KCl. Миозин входит в состав мышечных фибрилл — сократительных элементов мышечного волокна. В мышечной плазме миозина нет (И. И. Иванов, А. В. Герасимова, М. Л. Цимблер, 1953).

Новейшими исследованиями, проведенными Хаксли и Хансоном с использованием электронного микроскопа, установлено, что миозин локализован в так называемых *A*-нитях миофибрилл поперечнополосатых мышц (см. гл. I). После короткой экстракции миозина солевыми растворами с высокой ионной силой изображение этих нитей на электронных микрографах исчезает. Впрочем, эти данные оспариваются некоторыми авторами (см. Гелфан, 1958). Миозиновые нити имеют длину около 15 000 А; по-видимому, они образованы десятью молекулами миозина, соединенными «конец к концу». Толщина нитей соответствует 4—5 молекулам миозина (Холцер и Лёви — Holtzer a. Lowey, 1959). Таким образом, миозин принадлежит к числу так называемых фибриллярных белков, частицы которых имеют веретенообразную или нитевидную форму. Растворы миозина обнаруживают двойное лучепреломление в потоке (ДЛП) (см. стр. 12), которое, однако, не снижается в присутствии АТФ.

Подробные данные о физико-химических свойствах миозина можно найти в обзоре Пэрри (1956), Бэйли (1959), Бухталя и сотр. (1956).

Миозин может быть получен при определенных условиях не только в виде золя или геля, но, по Сент-Дьердьи, также в «кристаллической» форме. По данным М. Н. Любимовой (диссертация, 1957), эти кристаллы, однако, являются в действительности волоконцами, состоящими из закрученных пленок миозина.

Количество миозина в поперечнополосатой мускулатуре составляет, по Сент-Дьердьи, 25—30% от общего белка мышц, по Гассельбах и Шнейдеру — около 38%, по Гансен и Гаксли — 34%. Расхождение в величинах, найденных различными авторами, объясняется отсутствием достаточно точных методов выделения и количественного определения даже наиболее изу-

ченных мышечных белков, в частности миофибриллярных. Некоторые авторы, определяя содержание миозина, не учитывают наличия в нем примеси легкорастворимых миофибриллярных белков. Весьма часто миозин определяется вместе с актомиозином.

Миозин обладает специфической способностью связывать различные ионы, главным образом, ионы кальция и магния.

Из отдельных работ, посвященных этому вопросу, а также влиянию солей на АТФ-азу миозина, можно назвать статью Бэйли (1959), исследования Левис и Сароф (Lewis, Saroff, 1957), Хассельбаха (1952), Боуэн и Гершфельд (Bowen, Gerschfeld, 1957) и др.

Изоэлектрическая точка миозина (pH) лежит около 5,4. Молекулярный вес чистого миозина, определенный методом ультрацентрифугирования, доходит до 840 000. Другие авторы (Моммертс, Олдрич — Mommaerts. Aldrich, 1958; Лаки и Каррол — Laki a. Carroll, 1955; Холцер и Лёви, 1959; Джерджели — Gergely, 1958; Гиппел и др.— Hippel u. a., 1958) дают более низкие цифры порядка 420 000 (400 000—480 000). В последнем случае миозин получался и сохранялся при температуре ниже 10°, что исключало возможность агрегации молекул миозина.

Имеются данные, указывающие на возможность распада макромолекул миозина под влиянием мочевины, солянокислого гуанидина и т. д. на более простые субъединицы (Вебер и Штёвер — Weber, Stöver, 1933; Моммертс, 1950; Сент-Дьердьи, 1951). По данным Цао (Цао, 1953) молекулярный вес субъединицы миозина скелетных мышц не превышает 165 000. Даже простое разведение растворов миозина приводит к появлению различных фрагментов его частиц (Жоли и др.— Joly, 1955). Килли и Харрингтон (Kielley a. Harrington, 1960) определили, что в 0,5 М растворе KCl молекулярный вес миозина равен 619 000, в 5 М растворе солянокислого гуанидина он снижается до 206 000. Таким образом, величина молекулярного веса миозина может меняться в зависимости от ряда условий: концентрации белка в растворе, температуры, наличия веществ, вызывающих его дезагрегацию и т. д.

Миозин относится к группе *SH*-ферментов. Тиоловые яды (Cu, Hg, Cd, салирган [1], оксарсан, фуадин, советский препарат меркузал и др.), связывающие *SH*-группы миозина, резко снижают и его АТФ-азную активность (Бэйли и Перри, 1947; Циф— Ziff, 1944; Зингер и Баррон — Singer, Barron, 1944; В. А. Энгельгардт и Г. А. Яровая, 1955; и др.). Эти же яды лишают миозин способности комплексироваться с актином, тормозят или даже полностью угнетают сократимость актомиозиновых нитей и мацерированных мышечных волокон. Все эти функции восстанавливаются при связывании тиоловых ядов антидотами типа ци-

---

[1] Салицил (ν-оксиртуть-β-метоксипропил)-амидо-О-ацетат.

стеина; димеркаптопропанола и т. п. (Бэйли и Перри, 1947; Х. С. Коштоянц, 1951; Кушинский, Ланге, Турба — Kuschinsky, Lange, Turba, 1954; Кушинский, Турба, 1951; и др.). Однако не все *SH*-группы миозина имеют в равной мере отношение к проявлению его специфических ферментативных и контрактильных свойств.

Турба и Кушинский (1952) сообщили, что обработка *L*-миозина оксарсаном тормозит способность миозина комплексироваться с актином с образованием актомиозина.

В то же время оксарсан оказывает незначительное влияние на АТФ-азную активность актомиозиновых золей и гелей. На этом основании было сделано предположение, что расщепление АТФ миозином и взаимодействие его с актином осуществляется при участии различных сульфгидрильных группировок миозиновой частицы.

В последнее время интересные данные, подтверждающие это положение, были получены Барани и Барани (Barány a. Barány, 1959). Названные авторы показали, что из актомиозина, после обработки его йодацетамидом (*SH* — реагент), можно выделить миозиновый компонент, сохраняющий способность вновь соединяться с актином, но лишенный АТФ-азной активности.

Таким образом, в настоящее время можно считать, что взаимодействие миозина с актином действительно осуществляется при участии различных активных центров (различных *SH*-групп).

Снелман (1958) выделил из *L*-миозина пептид, образующий, по-видимому, часть АТФ -азного центра.

Последовательность чередования аминокислотных остатков в этом пептиде такова: аспарагиновая кислота — цистеин (*SH*) — тирозин — аргинин — лизин — валин — гликокол — глютаминовая кислота.

Тепловая денатурация миозина приводит к инактивации АТФ-азы, но в то же время к увеличению числа свободно реагирующих *SH*-групп. По данным Б. Ф. Поглазова, В. Билуши и А. А. Баева (1958), АТФ в концентрации $2 \cdot 10^{-5}$ М связывает до 70% *SH*-групп миозина, определяемых нитропруссидной пробой.

Литературу по указанному вопросу можно найти в обзорной статье Ю. М. Торчинского (1958).

Интересные данные о возможности триптического расщепления миозина на два компонента — тяжелый (*H*) меромиозин (~57%) и легкий (*L*) меромиозин (~43%) были получены Джерджели (1950), Перри (1951), Михали и Сент-Дьердьи (Mihalyi a. Szent-Györgyi, 1953). Эти авторы установили, что *H*-меромиозин обладает молекулярным весом = 232 000; *L*-меромиозин имеет сравнительно низкий молекулярный вес порядка 96 000. По другим данным (Холцер и Лёви, 1959) молекулярный вес *H*-моромиозина равен 324 000, *L*-меромиозина — 126 000. Сент-Дьердьи и Борбиро (Szent-Györgyi a. Borbiro, 1956) счи-

тают, что меромиозины в свою очередь построены из более мелких единиц — протомиозинов с молекулярным весом ~4500.

Следует заметить, что на возможность сложного строения миозина указывал еще в 1940 г. В. В. Оппель на основании изучения продуктов пепсинового расщепления миозина. АТФ-азная активность и способность образовывать комплексы с актином присуща только *H*-меромиозину. Однако комплекс *H*-меромиозина с актином, по данным Сент-Дьердьи, не обладает контрактильностью, т. е. не подвергается синерезису в присутствии АТФ. На этом основании Сент-Дьердьи считает, что контрактильные свойства присущи *L*-меромиозину. Недавно Варга и сотр. (Varga, 1955, 1957) нашел, что L-моромиозин обладает холинэстеразной активностью. Эти данные Варга о наличии у миозина холинэстеразной активности не подтверждаются, однако, другими авторами (И. И. Иванов и сотр.).

Как уже указывалось, миозин является ферментом — аденозинтрифосфатазой, катализирующим гидролиз АТФ с образованием АДФ и неорганического фосфата. Реакция протекает по уравнению:

$$\text{АТФ} + H_2O \rightarrow \text{АДФ} + H_3PO_4.$$

АТФ-азное действие миозина проявляется лишь в присутствии солей.

Миозиновая АТФ-аза активируется ионами Ca^{++} в определенной концентрации и угнетается ионами Mg^{++}. С другой стороны, АТФ-азная активность актомиозина, напротив, стимулируется ионами Mg^{++}.

В бессолевой среде миозиновые гели практически не расщепляют АТФ.

Недавно было показано, что скорость расщепления АТФ хлопьями *L*-миозина, изолированными миофибриллами кроличьих мышц (Вебер и Хассельбах — 1954), а также гелями актомиозина (Тономура, Китагава—1957), становится постоянной лишь через 120 секунд после начала расщепления. В первые секунды скорость гидролиза АТФ в 2—5 раз выше, чем в стационарном периоде.

Причина этого очень интересного явления все еще остается невыясненной.

АТФ-азная активность миозина в 0,6 М KCl резко возрастает в присутствии этилендиаминтетраацетата (ЭДТА). Механизм этого явления также остается еще неясным. Весьма вероятно, что ЭДТА связывает ионы металла (возможно Mg), угнетающего в обычных условиях АТФ-азную активность миозина (Фрисс, Моралес, Боуэн — Friess, Morales, Bowen, 1954; Боуэн, Кервин, 1954).

Неоднократно предпринимались попытки доказать возможность отделения от миозина его АТФ-азной активности, т. е. установить комплексную природу миозина. Сводку этих данных

можно найти в книге И. И. Иванова, 1950. Здесь можно лишь напомнить, что все эти попытки не привели к получению достаточно убедительных результатов. Весьма значительный интерес с этой точки зрения представляют цитированные выше работы Михали и Сент-Дьердьи, которые, однако, не дают права говорить об АТФ-азной активности миозина как о свойстве, обусловленном примесью к миозину обособленной АТФ-азы, поскольку *H*-меромиозин составляет основную массу белка и сохраняет многие, присущие миозину свойства.

В последнее время И. И. Иванов и сотр. (И. И. Иванов, Т. И. Иванова, 1951; И. И. Иванов, Э. А. Паршина и Н. И. Мирович, 1959) установили, что миозин может быть получен в ферментативно неактивной форме после воздействия на него высокого давления порядка 4000 атм. Однако в этом случае речь идет не об отделении от миозина особой АТФ-азы, но об инактивировании функциональных групп, придающих белку характер фермента. Препараты миозина, подвергнутые действию высокого давления, утрачивают АТФ-азную активность и способность к комплексообразованию с актином, но сохраняют при этом способность растворяться в 0,6 *M* KCl и выпадать в осадок при достаточном снижении ионной силы раствора. Вязкость и молекулярный вес таких препаратов ферментативно неактивного миозина резко возрастает (И. И. Иванов, Ю. Н. Берг, Н. А. Лебедева, 1960). Интересно, что картофельная апираза и водорастворимая (микросомная) АТФ-аза оказываются значительно более устойчивыми к действию высокого давления.

К чему сводится действие высокого давления на молекулу миозина еще неизвестно. Поскольку растворы миозина под давлением изменяют вязкость и слегка мутнеют, т. е. претерпевают те же изменения, которые наблюдаются при тепловой инактивации миозина (см. Б. Ф. Поглазов, В. Билуши и А. А. Баев, 1958), можно думать, что в обоих случаях дело сводится к инактивации функциональных тиоловых группировок, придающих миозину характер фермента.

Данные об аминокислотном составе миозина см. стр. 109.

Актин

При экстрагировании мышечной кашицы 0,5—1,0 *M* раствором KCl в течение более продолжительного времени, например 24 часов, в раствор переходит не миозин, а так называемый актомиозин — сложный комплекс миозина со вторым мышечным белком — актином, также входящим в состав миофибрилл. В актомиозине скелетной мускулатуры млекопитающих эти белки содержатся в соотношении примерно 3 : 1. Вопрос о локализации актина в миофибриллах рассматривался уже в гл. I.

Актин, открытый Штраубом в 1942 г., легко экстрагируется водой из мышц после предварительного извлечения из них мио-

зина 0,6 М раствором KCl при pH 8—9 и последующей обработки оставшейся мышечной массы ацетоном (для денатурации остатка миозина). На долю актина в миофибриллах, по-видимому, приходится около 20% всех миофибриллярных белков. В целой мышце азот актина составляет, по данным Сент-Дьердьи, около 10—12% всего белкового азота.

Актин может существовать в двух формах, резко отличающихся по своим физико-химическим свойствам,— глобулярной (*Г*) и фибриллярной (*Ф*). Тонкое строение *Г*-актина и *Ф*-актина хорошо видно на электронных микрографах. Диаметр нитей *Ф*-актина, по-видимому, измеряется величинами порядка 100 Å, по другим данным — около 40 Å. Считается, что фибриллы полимеризованного актина получаются не путем развертывания глобул *Г*-актина, но в результате их ассоциации в длинные цепочки. В процессе полимеризации актина очень важную роль играют ионы Mg. Превращение (активирование) легко подвижных растворов *Г*-актина в вязкий студнеобразный *Ф*-актин, обладающий ярко выраженными тиксотропными свойствами (т. е. способностью переходить в подвижный золь при встряхивании), вызывается обычно добавлением солей KCl и $MgCl_2$ в определенных концентрациях (см. стр. 235).

В отличие от миозина, актин не обладает собственным ДЛ, но обнаруживает ярко выраженное ДЛ формы (Formdoppelbrechung).

Молекулярный вес актина близок к 70 000 (по другим данным 56 00). Однако, актин может существовать и в димерной форме с молекулярным весом равным 140 000.

Штрауб и Фейер (1950) показали, что *Г*-актин всегда связан с минимальным количеством АТФ. При полимеризации актина (при образовании *Ф*-актина) АТФ дефосфорилируется в АДФ. Однако ни *Г*-актин, ни *Ф*-актин АТФ-азной активностью не обладают. Данные, характеризующие аминокислотный состав актина, приведены в табл. 6.

Как уже указывалось, актин обладает способностью соединяться in vitro с миозином с образованием вязкого актомиозина. По данным И. И. Иванова и сотр. (И. И. Иванов, Б. С. Касавина и Л. Д. Фоменко, 1947; И. И. Иванов и Е. Г. Киселева, 1948; И. И. Иванов и Б. С. Касавина, 1948), эта реакция лишена видовой специфичности и легко удается с белками, выделенными из поперечнополосатых мышц животных, весьма далеко отстоящих друг от друга в системе классификации (например, лягушки и голубя, лягушки и морской свинки, даже кролика и таракана и т. д.).

Выше уже указывалось, что по данным И. И. Иванова и Т. И. Ивановой (1951), миозин утрачивает свою АТФ-азную активность под действием высокого давления порядка 3500—4000 атмосфер. Еще легче, как показали исследования И. И. Ива-

нова, Ю. Н. Берг, Н. А. Лебедевой (1960), под давлением инактивируется актин. Частичная инактивация актина и потеря способности соединяться с миозином наступает уже при воздействии давлением порядка 1000 атм. Инактивация актина под действием высокого давления наступает и в том случае, если актин связан с миозином. Растворы актомиозина после воздействия давлением в 1000 атм. в большей или меньшей степени утрачивают способность реагировать снижением вязкости на добавление АТФ. Относительная вязкость концентрированных растворов актомиозина после воздействия высокого давления более или менее резко снижается в результате распадения комплекса на денатурированный актин и миозин, сохраняющий или не сохраняющий (в зависимости от величины приложенного давления) свою АТФ-азную активность. Степень денатурации актинового компонента в актомиозине зависит от концентрации белка в растворе.

Актомиозин (миозин *B*, α-миозин Дюбюиссона, *S*-миозин Вебера)

Актомиозин (или актомиозины) как «естественный», так и «искусственный», т. е. полученный путем соединения in vitro миозина и актина, обладает рядом уникальных свойств.

Растворы актомиозина в 0,6 М KCl при понижении концентрации солей, например, путем диализа, а также при выдувании актомиозинового золя через тонкую трубку в чистую воду или в солевой раствор с низкой ионной силой, застывают в рыхлый гель. Полученный таким образом в форме тонких нитей актомиозиновый гель, сохраняющий присущую миозину АТФ-азную активность, обладает, как было установлено Сент-Дьердьи с сотрудниками, замечательной способностью резко сжиматься при известной концентрации солей K и Mg (например, 0,05 М KCl и 0,001 М $MgCl_2$) при добавлении аденозинтрифосфата (АТФ). При этом из актомиозинового геля выдавливается вода, т. е. происходит синерезис коллоида, и образуется компактный, занимающий незначительный объем, мало гидратированный белковый комочек (рис. 11). При более высоких концентрациях солей (0,6 М KCl и выше) актомиозин при добавлении АТФ диссоциирует на свои компоненты — актин и миозин. Вязкость геля при этом резко снижается. После расщепления добавленного аденозинтрифосфата вязкость геля вновь возрастает, что указывает на образование исходного актомиозинового комплекса. Процесс этот может быть повторен многократно.

Другую точку зрения о механизме снижения вязкости актомиозинового геля в присутствии АТФ развивал Д. Л. Рубинштейн (см. Е. Д. Грищенко, 1958).

Имеются данные (Тономура, Мацумия, Китагава, Морита, 1957), что для восстановления исходной вязкости актомиозино-

вого геля после снижения ее добавлением АТФ необходимо присутствие креатинкиназы и креатина (или, в случае актомиозина беспозвоночных — аргинина и аргининкиназы), которые обычно имеются в виде примесей в препаратах неочищенного актомиозина (миозина *B*).

Синерезис актомиозиновых гелей (так же как и сокращение мацерированного мышечного волокна) может быть вызван лишь нуклеозидполифосфатами, содержащими высокоэргические фосфатные связи [1]. Что же касается разжижающего эффекта АТФ на актомиозиновые гели в 0,6 М растворе KCl, то в этом случае АТФ может быть заменен рядом других соединений, например

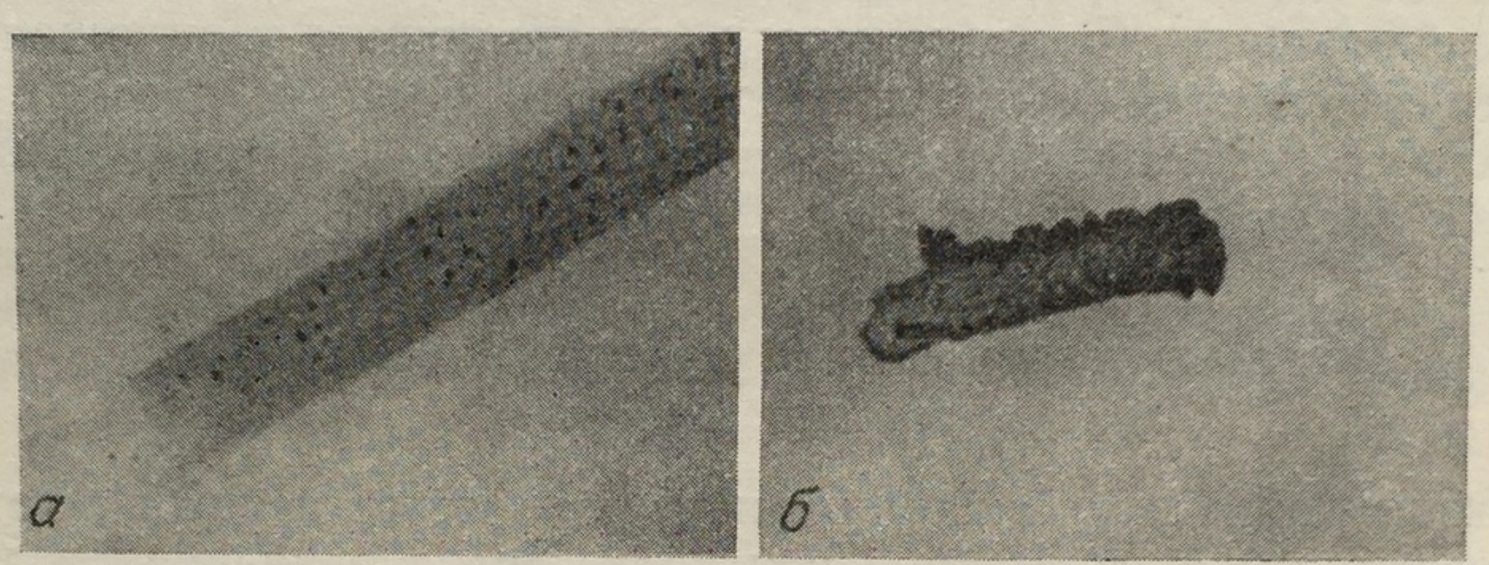


Рис. 11. Синерезис актомиозинового геля в присутствии АТФ.

неорганическим пирофосфатом. Очевидно, это объясняется тем, что для диссоциации актомиозинового комплекса на актин и миозин не требуется внесения в систему энергии извне; синерезис же актомиозиновых нитей, как и сокращение мышечных волокон, по-видимому связан с переходом актомиозина на более высокий энергетический уровень. В этом случае, по-видимому, необходимо изменение обычной связи между актином и миозином на связь высокоэргическую. Последнее может, очевидно, осуществиться лишь в результате взаимодействия белкового комплекса с макроэргами типа АТФ или другими нуклеозидполифосфатами.

По представлению Сент-Дьердьи, сжатие актомиозина под влиянием АТФ лежит в основе феномена сокращения и живой мышцы.

Другие авторы не считают, однако, возможным рассматривать синерезис актомиозинового геля в присутствии аденозинтрифосфата как модель сокращения мышцы in vivo, поскольку объем мышцы при сокращении практически не меняется, в то

---

[1] Недавно Лаки и Боуэн (Laki u. Bowen. Bioch. Bioph. Acta, 1955, 16, 301) показали, что сокращение мацерированных миофибрилл и актомиозиновых нитей может быть вызвано добавлением KJ и KCNS. Здесь, однако, речь идет, по-видимому, лишь о внешней аналогии с действием АТФ на актомиозиновые гели. Возможно, что KJ и KCNS вызывают деполимеризацию актина, что и приводит к синерезису актомиозиновой системы.

время как при «сокращении» актомиозинового геля объем его уменьшается в несколько раз.

В настоящее время обе точки зрения можно в известной мере примирить. Дело в том, что дегидратирование актомиозина при взаимодействии с АТФ, конечно, не может лежать в основе феномена мышечного сокращения. Дегидратирование актомиозина является своего рода сопутствующим эффектом этой реакции. Вместе с тем, однако, при взаимодействии АТФ с актомиозином, по-видимому, действительно наблюдается то же самое явление — превращение актомиозина в «возбужденную форму»,— которое обусловливает возможность возникновения реакции пе-

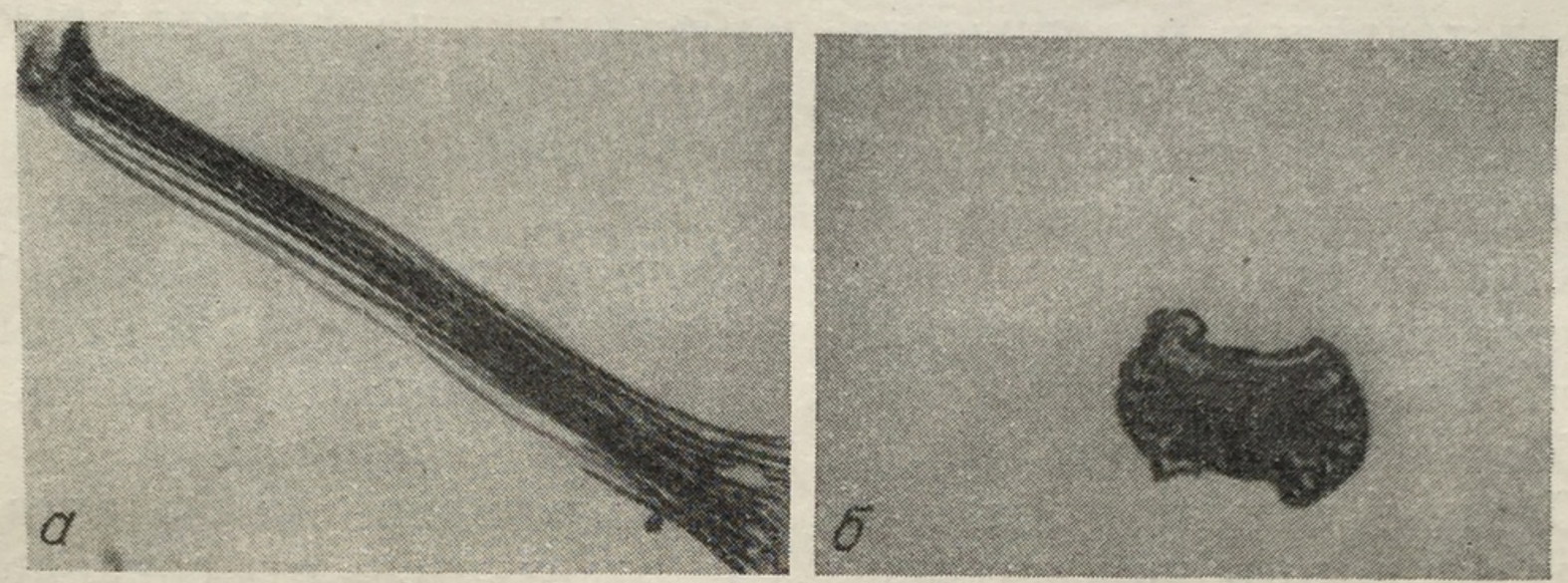


Рис. 12. Сокращение мацерированного мышечного волокна в присутствии АТФ.

ремещения актиновых нитей вдоль миозиновых нитей при сокращении живой мышцы.

В этом смысле сжатие актомиозинового геля в комочек (синерезис геля) при взаимодействии его с АТФ и сокращение мышечного волокна можно рассматривать как родственные явления.

Как бы то ни было, несомненно, что взаимодействие АТФ с мышечными белками действительно приводит к сокращению мышечного волокна. Это сокращение можно легко наблюдать, как было показано Сент-Дьердьи, на безжизненных, лишенных возбудимости, кусочках мышцы, вымоченных в течение нескольких дней в воде или 50%-ном глицерине при взаимодействии их с АТФ (рис. 12).

Сокращение мацерированного (вымоченного в воде или в 50%-ном глицерине) мышечного волокна под влиянием АТФ отличается от сокращения живой мышцы при раздражении ее с нерва лишь меньшей скоростью этого процесса и в обычных условиях опыта отсутствием обратного расслабления (см. гл. III).

Все вышеизложенное позволяет считать, что сокращение живой мышцы неразрывно связано с взаимодействием АТФ или других нуклеозидтрифосфатов с водонерастворимыми белками актомиозинового комплекса.

* *
*

Вернемся теперь еще раз к вопросу о связи между явлением сокращения под влиянием АТФ мацерированного в 50%-ном глицерине мышечного волокна и синерезисом в тех же условиях актомиозиновой нити.

Как уже указывалось, между сокращением живой мышцы или изолированного возбудимого мышечного волокна и отмытой водой или глицерином миофибриллы в присутствии АТФ существует глубокое сходство. Во всех этих случаях сокращение носит анизодименсиональный характер (т. е. сокращаясь в длину, волокно одновременно становится толще), сокращение может быть источником механической работы, вполне соответствующей по своей величине работоспособности живой мышцы, и, наконец, как было показано в последние годы, сократившееся под влиянием АТФ отмытое волокно может быть при определенных условиях вновь переведено в расслабленное состояние. Все это позволяет рассматривать сокращение в присутствии АТФ отмытого водой или 30—50%-ным глицерином мышечного волокна, как наиболее совершенную модель мышечного сокращения.

Следует только учитывать, что сокращение мышечного волокна in vitro в присутствии АТФ отличается от сокращения живой мышцы значительно меньшей скоростью этого процесса и отсутствием токов действия, с появлением которых неразрывно связана двухфазная работа живой мышцы.

С другой стороны, синерезис актомиозиновых нитей, приготовленных по методу Сент-Дьердьи (1947), всегда происходит изодименсионально, т. е. гель сокращается более или менее равномерно во всех направлениях, выдавливая из себя избыток жидкости.

Это сокращение, как в настоящее время известно, практически является, по крайней мере в зонах физиологических значений pH и концентрации солей, необратимым процессом; неденатурированные актомиозиновые нити могут, сокращаясь, приподнимать лишь чрезвычайно небольшой груз (И. И. Иванов, 1950, а, б и в).

Если считать, исходя из представления Сент-Дьердьи, что синерезис актомиозинового геля под влиянием АТФ связан с изменением формы частиц актомиозина, то в этом случае сокращение актомиозиновой нити in vitro под влиянием АТФ надо рассматривать как феномен, лежащий в основе и явления мышечного сокращения in vivo, т. е. в живом организме.

Подробный разбор этих представлений со ссылками на ряд наблюдений, противоречащих высказанному взгляду, можно найти в другом месте (И. И. Иванов, 1950 а и б; Штрауб и Зекел — Straub a. Sekel, 1951; см. также Штрауб, 1950).

Здесь необходимо лишь напомнить, что, по мнению Сент-Дьердьи, основное отличие актомиозина, полученного in vitro от

актомиозина, входящего в состав мышечного волокна, заключается в том, что в миофибриллах частицы актомиозина ориентированы по длине волокон, в актомиозиновом же студне мицеллы белка расположены совершенно беспорядочно.

В результате этого при воздействии АТФ на актомиозиновую нить последняя сокращается изодименсионально, т. е. становится короче и тоньше; одновременно объем ее резко уменьшается за счет потери значительной части воды. Совершенно другая картина должна наблюдаться, по мнению Сент-Дьердьи, в тех случаях, когда элементарные частицы актомиозина расположены параллельно друг другу. В этом случае освобождающаяся под влиянием АТФ вода удерживается в межмицеллярных пространствах и объем студня остается неизмененным. Герендаш (Gerendas, 1942) первый пытался подкрепить опытным путем высказанные Сент-Дьердьи соображения, экспериментируя с частично денатурированными сернокислым цинком актомиозиновыми нитями, подвергавшимися растяжению. Ему, действительно, удалось показать возможность анизодименсионального сокращения таких нитей под влиянием АТФ.

Есть, однако, веские основания считать (см. И. И. Иванов, 1950 а, 1950 б), что сокращение частично денатурированной и затем растянутой нити при добавлении АТФ происходит за счет эластических сил растянутых структур частично денатурированного белка.

Как известно, нити, обработанные слабым раствором $ZnSO_4$ или $CuSO_4$, приобретают ярко выраженную эластичность и после растягивания при снятии нагрузки хорошо сокращаются (притом анизодименсионально) и в отсутствие АТФ. Однако, такое сокращение, очевидно, не имеет никакого отношения к сокращению в присутствии АТФ свободно плавающих нативных актомиозиновых нитей.

Эту точку зрения разделяет и Штрауб. В опубликованной им, совместно с Зекел, работе (1951) авторы пишут: «Иванов (1950) обращает внимание на то, что согласно данным Герендаша (1942), Zn-нити частично денатурированы; он предполагает, что именно денатурированная часть нити является ответственной за анизодиаметрическую контракцию. В настоящих опытах это предположение Иванова нашло полное подтверждение».

Опыты Штрауб и Зекел (1951), о которых здесь идет речь, заключались в основном в следующем: изучалось сокращение частично денатурированных сернокислым цинком растянутых актомиозиновых нитей в присутствии АТФ и некоторых других веществ. Венгерские авторы нашли, что сокращение таких нитей, в противоположность синерезису актомиозинового геля, может вызывать не только АТФ, но также фосфаты и даже гликокол. Анизодименсиональное сокращение частично денатурированных растянутых нитей наблюдалось, по их данным, и в тех

случаях, когда вместо актомиозина для их приготовления использовался миозин, свободный от актина.

Все это, по мнению Штрауб и Зекел заставляет считать, что «анизодиаметрическая контракция» обработанных сернокислым цинком актомиозиновых нитей является артефактом, механизм этого явления совершенно иной, чем механизм синерезиса нативных актомиозиновых нитей в присутствии АТФ. Авторы показали возможность своеобразного взаимодействия денатурированного актомиозина с АТФ, фосфатами и гликоколом, в результате чего происходит неспецифическое набухание нитей. Штрауб подчеркивает также несостоятельность предположения Сент-Дьердьи, согласно которому анизодименсиональное сокращение растянутых актомиозиновых нитей объясняется ориентировкой актомиозиновых мицелл по длине нити. Несколько позднее Портцел (1951, 1952) и Вебер (1951) описали способ приготовления нитей из очищенного актомиозина, способных развивать при сокращении в присутствии АТФ натяжение до 300 г/см^2. Приготовление этих нитей в основном сводится к следующим операциям: концентрация белка несколько повышается путем выдерживания обычных актомиозиновых нитей в водном растворе глицерина и последующего подсушивания их при 0°. Затем полученные нити осторожно растягиваются. Таким путем, по мнению Портцел, достигается структурирование нити. Нити, приготовленные по Портцел, укорачиваются в присутствии АТФ на 30%, их двойное лучепреломление уменьшается при сокращении, и, наконец, как уже указывалось, такие нити, обладая известной прочностью и эластичностью, могут поднимать, сокращаясь в присутствии АТФ, довольно значительный груз.

Другим типом «структурированных» нитей, способных якобы сокращаться анизодименсионально и выполнять заметную механическую работу, являются пленочные нити, приготовленные Хаяши (Hayashi, 1952). Пленочные актомиозиновые нити были приготовлены Хаяши путем сжатия «мономолекулярных» актомиозиновых пленок и представляют собой своеобразные «гармоники», состоящие из очень большого количества складок тончайших актомиозиновых пленок. Такого рода пленочные нити, в отличие от обыкновенных актомиозиновых нитей, обладают как и нити, приготовленные по Портцел, известной эластичностью и, сокращаясь более или менее анизодименсионально, поднимают относительно большой груз.

Среди ряда зарубежных биохимиков, по-видимому, незнакомых с цитированными выше работами (Штрауб и Зекел, 1951, и И. И. Иванов, 1950 а, 1950 б), в настоящее время довольно широко распространен взгляд, что получение нитей по методу Портцел и пленочных актомиозиновых нитей по Хаяши, сокращающихся анизодименсионально, позволяет заполнить брешь между феноменом синерезиса в присутствии АТФ неупорядочен-

ных актомиозиновых гелей и сокращением вымоченного в глицерине мышечного волокна.

Надо, однако, подчеркнуть, что для такого рода заключения нет сколько-нибудь достаточных оснований.

Недавно И. И. Ивановым и Ю. М. Торчинским (1955) было показано, что в той мере, в какой сокращение частично обезвоженных и частично денатурированных нитей, приготовленных по методу Портцел, еще сохраняется, оно по своему механизму частью не отличается от обычного синерезиса актомиозиновых нитей в присутствии АТФ, частью является артефаком, не имеющим вообще отношения к сокращению нативного контрактильного белка. Действительно, появление эластичности и увеличение прочности актомиозиновых нитей, обработанных по методу Портцел (но не растянутых), сопровождается снижением их сократимости и уменьшением скорости сокращения в присутствии АТФ и, очевидно, является следствием частичной денатурации белкового вещества нити в результате постепенного высушивания. При этом в веществе нити вероятно возникает, в соответствии со взглядом Штрауба (1950), ультрамикроскопическая сетчатая структура, состоящая из нитей денатурированного белка. Можно, таким образом, думать, что в растянутых, частично денатурированных нитях, приготовленных по методу Портцел, участки неденатурированного актомиозинового геля оказывают сопротивление силам, стремящимся вернуть растянутые эластические денатурированные сетчатые структуры к их исходной длине. Добавление АТФ вызывает синерезис части неденатурированного актомиозина, т. е. выжимание воды из неденатурированных участков нитей и, следовательно, их «спадение», что неизбежно приводит к сокращению (притом анизодименсиональному) всей растянутой нити. Однако это сокращение вызывается уже эластическими силами предварительно растянутых денатурированных белковых сетчатых структур нити и, очевидно, является лишь любопытным артефактом, но отнюдь не следствием взаимодействия АТФ с правильно ориентированными в растянутой нити нативными актомиозиновыми мицеллами.

Об этом с полной очевидностью говорят следующие факты.

Как известно, актомиозиновые нити можно денатурировать сернокислой медью (5×10^{-4} М) и затем реактивировать цистеином. У таких реактивированных цистеином нитей, в согласии с многочисленными литературными данными (Х. С. Коштоянц, 1951; Л. И. Торбочкина, 1953; и др.), полностью восстанавливается способность к сокращению в присутствии АТФ. Однако, если нити денатурировать, растянуть их в 2—2,5 раза и затем реактивировать цистеином, то такие нити, обладающие выраженным двойным лучепреломлением и, следовательно, состоящие из мицелл, ориентированных по длине нити, сокращаются, по данным И. И. Иванова и Ю. М. Торчинского (1955), в

присутствии АТФ слабее, чем нити неориентированные (нерастянутые). При достаточном растяжении нитей заметного сокращения их после добавления АТФ вообще не наблюдается.

Эти данные с несомненностью говорят о том, что 1) ориентировка актомиозиновых мицелл по длине нити не приводит к возникновению в актомиозиновом геле способности к анизодименсиональному сокращению и 2) сокращение нативных актомиозиновых нитей, несомненно, является типичным межмицеллярным синерезисом. Действительно, при растяжении денатурированных $CuSO_4$ нитей наблюдается чисто механическое выдавливание из белкового геля части воды, эта вода не входит уже в состав геля после его реактивации цистеином. Чем больше «выдавливается» из актомиозина воды, т. е. чем больше уплотняется нить и чем больше возрастает ее удельный вес, тем в меньшей степени актомиозиновый гель сохраняет способность к синерезису (сокращению) в присутствии АТФ.

Необходимо, наконец, рассмотреть более подробно данные, полученные Хаяши (1952), а также К. А. Кафиани (1953). Поскольку сокращение пленочных актомиозиновых нитей (см. выше) происходит без заметного уменьшения объема нити, в основе такого сокращения, по-видимому, не может лежать явление синерезиса, т. е. обезвоживания геля. На этом основании Хаяши (1952) допускает, что пленочная нить сокращается под влиянием АТФ в результате не синерезиса, но изменения формы отдельных связанных между собой элементарных актомиозиновых мицелл. Можно было думать, что в пленочных нитях достигнута как более строгая ориентация мицелл вдоль оси нити (на что указывает резкое двойное лучепреломление этих нитей), так и непрерывность структуры, благодаря чему пленочные нити при сокращении под влиянием АТФ оказываются способными поднимать известный груз.

Вместе с тем Хаяши признает, что использованная им методика определения воды в пленочных нитях до и после сокращения была крайне неточной (так как большое количество воды удерживалось в складках нитей) и указывает на необходимость оценивать полученные им результаты с известной осторожностью.

К. А. Кафиани (1953), работавший с миозиновыми нитями, подтвердив ряд данных Хаяши, получил вместе с тем несколько иные результаты. Так, например, К. А. Кафиани отмечал возможность сокращения в присутствии АТФ не содержащих актина пленочных миозиновых нитей.

Нельзя, однако, не отметить, что данные К. А. Кафиани о возможности «сокращения» пленочных миозиновых нитей в присутствии АТФ не получили подтверждения в исследованиях других авторов. Как оказалось, пленочные нити, приготовленные из миозина, полностью освобожденного от примесей актина, лишены способности взаимодействовать с аденозинтри-

фосфатом (Хаяши, Розенблат, Сатайр, Фоцик — Hayashi, Rosenbluth, Satir, Vozick, 1958; М. М. Заалишвили и Г. В. Минадзе, 1956, 1959; Ю. М. Торчинский, 1956).

Эти данные подтверждают положение, высказанное впервые Сент-Дьердьи, о том, что истинным сократительным белком является комплекс, состоящий из миозина и актина.

И. И. Иванов и Ю. М. Торчинский (1955) исследовали с помощью более точного метода (погружение нитей в смеси хлороформа и бензола с различным содержанием этих компонентов) удельный вес пленочных актомиозиновых нитей до и после их сокращения под влиянием АТФ. При этом было установлено, что удельный вес сократившихся пленочных нитей (в среднем 1,047) заметно больше их удельного веса до сокращения (в среднем 1,020). Повышение удельного веса нитей после сокращения определенно указывает на то, что тончайшие актомиозиновые пленки, из которых построена пленочная нить, теряют воду в процессе сокращения. Это соответствует и одновременно наблюдаемому уплотнению пленочной нити, на что указывал Хаяши.

Таким образом, можно считать установленным, что в основе взаимодействия пленочных актомиозиновых нитей с АТФ лежит обычный процесс обезвоживания (синерезиса) актомиозинового геля в результате реакции с аденозинтрифосфатом. Меньшая степень и меньшая скорость сокращения пленочных нитей по сравнению с нативными, большая их механическая прочность и способность поднимать известный груз при взаимодействии с АТФ, по-видимому, объясняются наличием в пленочных нитях известного количества растянутых денатурированных белковых структур, возникающих в процессе изготовления нитей (при боковом сжатии актомиозиновых пленок).

И. И. Ивановым и Ю. М. Торчинским было действительно показано, что пленочные актомиозиновые нити, полученные при нанесении на поверхность жидкости в кювете Ленгмюйера меньшего, чем обычно количества белка, наряду с меньшей сократительной способностью, характеризуются большей прочностью и эластичностью.

Напомним здесь, что в тонких поверхностных слоях белковые вещества, в частности, миозин, подвергаются денатурации в тем большей степени, чем более толщина белкового слоя приближается к мономолекулярному.

Что же касается отсутствия уменьшения диаметра пленочных нитей при взаимодействии их с АТФ, то это явление может быть легко объяснено следующим образом: у нитей, состоящих из множества складок тончайшей белковой пленки, в которых удерживается относительно очень большое количество жидкости, уже a. priori нельзя ожидать сколько-нибудь заметного уменьшения общего объема нити в результате обезвоживания

актомиозиновых пленок, поскольку выделяющаяся при этом вода удерживается в складках нитей.

Все вышеизложенное заставляет считать экспериментально необоснованным утверждение, согласно которому в основе сокращения пленочных нитей лежит механизм связанный не с синерезисом актомиозинового геля, но с изменением под влиянием АТФ внутренней структуры молекул (конфигурация полипептидных цепей) нативного актомиозина.

Итак, в настоящее время нет возможности говорить об отсутствии принципиальной разницы между механизмом синерезиса актомиозинового геля в присутствии АТФ и анизодименсиональным сокращением миофибрилл. Скорее, можно считать, что обезвоживание геля актомиозина при взаимодействии его с АТФ является своего рода сопутствующим эффектом тех реакций, которые действительно лежат в основе сокращения мышечного волокна. Такой реакцией, как уже упоминалось, может быть превращение при участии АТФ обычных связей между частицами миозина и актина в актомиозиновом комплексе в высокоэргические связи «возбужденного» актомиозина. Переход актомиозина на более высокий энергетический уровень действительно является, по-видимому, необходимой предпосылкой как сокращения мышечного волокна, так и синерезиса актомиозинового геля.

Надо также подчеркнуть существование теснейшего параллелизма между способностью мышечных органов к осуществлению более или менее выраженных сократительных реакций и наличием в них белка (актомиозина), способного подвергаться в присутствии АТФ синерезису.

Тропомиозин

К числу миофибриллярных белков, помимо миозина и актина, относится тропомиозин, впервые выделенный из мышц английским ученым Бэйли (1946). Хотя препараты чистого тропомиозина скелетных мышц растворимы в воде, однако тропомиозин не может быть извлечен из мышечной кашицы водой или солевыми растворами с низкой ионной силой, так как в мышечном волокне он, по-видимому, связан с водонерастворимыми белками. Для получения тропомиозина измельченную мышцу отмывают от саркоплазматических белков водой, затем высушивают для денатурации миозина спирто-эфирной смесью и наконец извлекают тропомиозин концентрированным солевым раствором. Тропомиозин может быть получен в кристаллическом виде (рис. 13). Ферментативной (АТФ-азной) активностью этот белок не обладает. На долю азота тропомиозина, по данным Бэйли (1948), приходится около 2,5% всего белкового азота скелетных мышц кролика. Белки миофибрилл содержат около 4% тропомиозина. По данным Бэйли тропомиозин входит также в состав

сердечной и гладкой мускулатуры млекопитающих и рыб. Особенно высоким содержанием тропомиозина, по данным китайского биохимика Цао, отличается гладкая мускулатура.

Тропомиозин обладает интересной особенностью — способностью переходить при отсутствии солей в очень вязкий гель, в котором с помощью электронного микроскопа легко обнаруживаются нити длиной до 3000 Å и шириной 250 Å. В 0,16 М KCl, т. е. при той ионной силе, которая соответствует концентрации внутренней среды клеток теплокровных животных, тро-

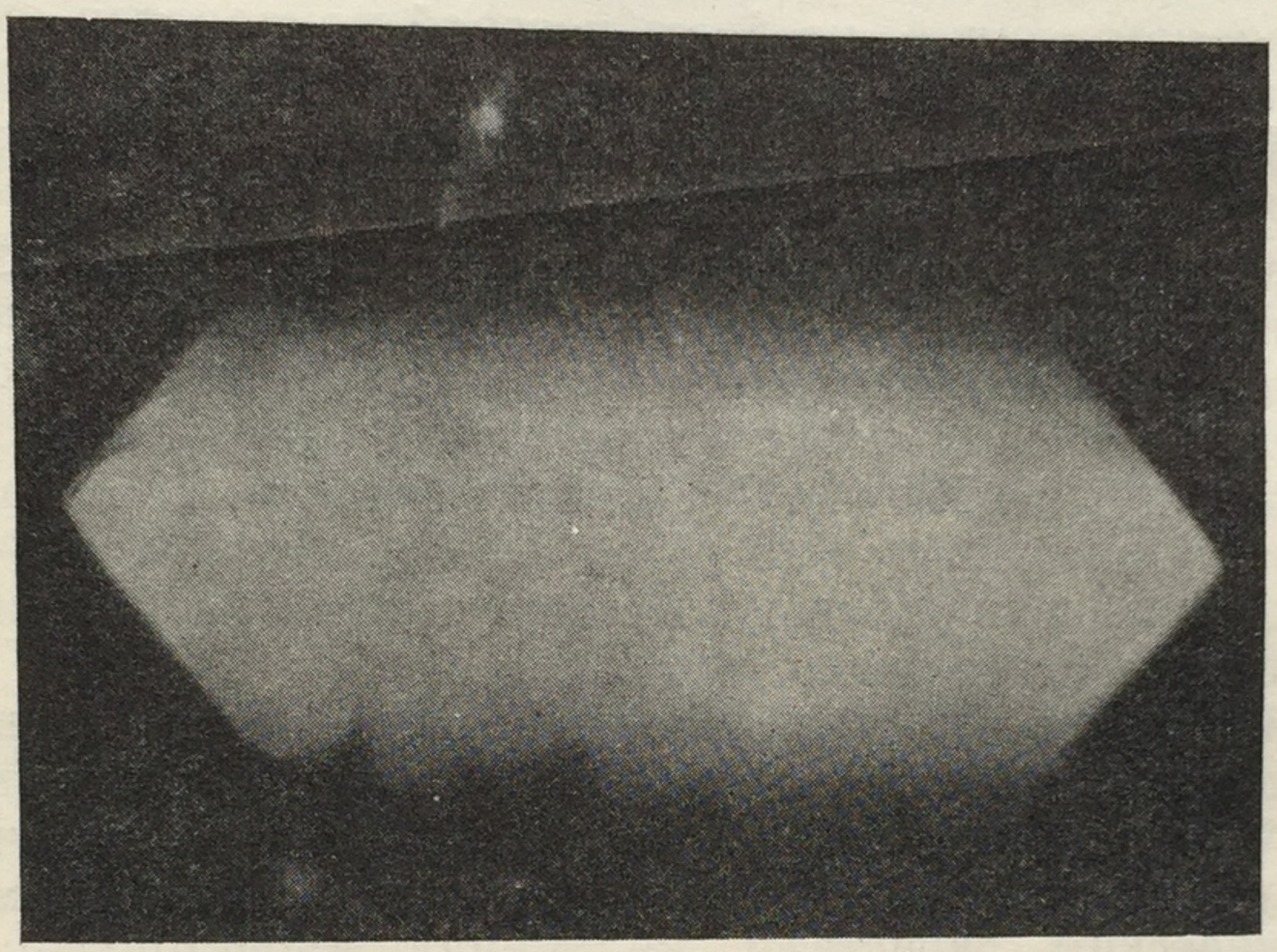


Рис. 13. Кристалл тропомиозина (получен З. Н. Жаховой по методу Бэйли).

помиозин сильно деполимеризован и имеет молекулярный вес около 120 000.

По другим данным (Лаки, 1957) молекулярный вес тропомиозина колеблется в пределах 50 000—60 000. Изоэлектрическая точка его лежит при pH 5,1 (по другим данным — 4,6).

В настоящее время считается, что тропомиозины разного происхождения (впрочем, так же как и миозины) могут существенно отличаться по ряду свойств и по аминокислотному составу. Этот вопрос подробно рассматривается в ряде работ Лаки и соавторов (Лаки, 1957, 1958; Коминц, Саад, Лаки — Kominz, Saad, Laki, 1957; Коминц, Саад и др.— Kominz, Saad, Gladner, Laki, 1957). Тропомиозин гладкой мускулатуры отличается, например, от тропомиозина поперечнополосатых мышц по аминокислотному составу и по форме кристаллов.

В последние годы интенсивно изучался вопрос о наличии тропомиозина в гладкой запирательной мускулатуре беспозвоночных (моллюсков). При этом был получен ряд новых данных, которые, с одной стороны, позволили более широко охарактери-

зовать белки «тропомиозиновой группы», но с другой — значительно усложнили вопрос о классификации мышечных белков и привели к представлению о возможности довольно резкого изменения физико-химических свойств белков тропомиозиновой группы, в частности их растворимости, на различных ступенях эволюционной лестницы. Препараты тропомиозина могут обнаруживать характер гетерогенных систем, состоящих по крайней мере из двух компонентов. При осаждении сульфатом аммония тропомиозина, выделенного из мускулатуры моллюсков, получаются, например, две фракции: одна из них, получившая название тропомиозин *A*, на долю которой приходится около 80% всего белка, высаливается в интервале 28—40% насыщения (26—35%), другая, осаждающаяся при 45—65% насыщения (40—55%), называется тропомиозином *B*.

По-видимому, тропомиозин *B* моллюсков соответствует тропомиозину других видов животных. Тропомиозин моллюсков *A*, в отличие от описанного ранее тропомиозина других животных, принадлежит к числу водонерастворимых белков. Для него особенно характерна высокая вязкость и сильное ДЛ. Молекулярный вес его, по данным Кэй (Кау, 1959), равен 130 000—137 000. Соотношение лизин/аргинин для всех типов тропомиозина одинаково и колеблется около 140.

Лаки считает, что тропомиозин можно рассматривать как субъединицу миозиновой молекулы. С помощью трипсина этому автору удалось выделить из денатурированного миозина кристаллизующийся белок, который по своим химическим и физико-химическим свойствам напоминал тропомиозин (Лаки, 1957). Однако, в настоящее время с мнением Лаки еще трудно согласиться.

Тропомиозин относительно резистентен по отношению к различным денатурирующим агентам. Все же под действием высокого давления (4000 атм.) этот белок, так же как и миозин, по крайней мере частично утрачивает ряд своих характерных свойств, в частности высокую вязкость в чистой воде.

Способы получения тропомиозина описаны в III части этой книги. Было высказано предположение (Бэйли, 1959; Шенг Пеи-Кен и Цао, 1955; И. И. Иванов и сотр., 1959; Джонсон, Кан и Сент-Дьердьи, 1959; Рюэг, 1959), что способность гладких мышц к осуществлению запирательной функции связана с изменением коллоидного состояния именно этого белка. Указанный вопрос подробнее рассматривается в главе I.

Амуару (Hamoir, 1951, 1952) и Цао и Бэйли (Tsao a. Bailey, 1953) удалось получить тропомиозин в кристаллической форме в виде комплекса с нуклеиновыми кислотами. Этот комплекс был назван нуклеотропомиозином. Однако, нуклеотропомиозин, по-видимому, является своеобразным артефактом, возникающим в процессе выделения из мышечной ткани. Так, в более поздней работе Шенг Пеи-Кен, Цао Тиен-Син и Пенг Чиа-Му

(Sheng Pei-Ken, Tsao Tien-Chin, Peng Chia-Mu, 1956) указывают, что при повторном переосаждении нуклеотропомиозина содержание нуклеиновой кислоты в нем постепенно снижается. Это, по-видимому, говорит о том, что нуклеиновый компонент входит в состав белка в переменном количестве и не является его обязательной составной частью.

Еще большее сомнение вызывает утверждение о существовании «актотропомиозина» как индивидуального белкового вещества.

В настоящее время весьма подробно изучен аминокислотный состав важнейших мышечных белков, в том числе тропомиозина, миозина, *H*- и *L*-меромиозинов и актина. Данные об аминокислотном составе кроличьего миозина, актина и тропомиозина приводятся в табл. 5, 6 и 7.

На основании сравнения аминокислотного состава миозина, тропомиозина и актина Лаки (1957 а и б) приходит к выводу,

Таблица 5

Аминокислотный состав миозина

Название аминокислоты	Процент азота аминокислоты	Процент аминокислоты в белке	Число граммолей аминокислоты в 10^5 г белка	
	По данным Коминц, Хоуг, Симондс и Лаки (Kominz, Hough, Symonds, Laki, 1954)			По данным Бэйли
Цистин	0,72	1,03	8,6	12
Аспарагиновая кислота	7,12	11,40	85	67
Треонин	3,44	4,88	41	43
Серин	3,44	4,31	41	41
Глютаминовая кислота	13,00	22,80	155	150
Пролин	1,84	2,53	22	17
Глицин	3,27	2,92	39	25
Аланин	6,53	6,94	78	73
Валин	3,52	4,92	42	22
Метионин	1,84	3,28	22	23
Изолейцин	3,52	5,50	42	119
Лейцин	6,62	10,35	79	
Тирозин	1,51	3,25	18	19
Фенилаланин	2,26	4,46	27	28
Гистидин	3,76	2,32	15	15
Лизин	14,25	12,40	85	81
Аргинин	13,80	7,13	41	42
Триптофан	0,66	0,80	—	3,9
Амидный азот	7,2			86
Всего	98,30	111,22	844	779

Примечание. Процент азота в белке принят равным 16,7.

Таблица 6

Аминокислотный состав актина

Название аминокислоты	Процент азота аминокислоты	Процент аминокислоты в белке	Число грамм-молей аминокислоты в 10^5 г белка			
	по данным					
	Коминц, Хоуг, Симондс и Лаки (Kominz, Houg, Simonds a. Laki (1954)		Иванова и Асмоловой (1950), Герасимовой и Иванова (1952)	Коминц, Хоуг, Симондс, Лаки (1954)	Иванова и Асмоловой (1950)
Цистин	0,94	1,34	1,1	11,2	10
Аспарагиновая кислота	6,87	10,90	8,9	82,0	70
Треонин	4,95	7,02	—	59,0	—
Серин	4,70	5,88	—	56	—
Глютаминовая кислота	8,45	14,85	15,5	101	111
Пролин	3,69	5,06	7,1	44	
Глицин	5,61	5,02	6,9	67	
Аланин	5,95	6,31		71	
Валин	3,52	4,92	2,8	42	
Метионин	2,51	4,47	4,6	30	32
Изолейцин	4,77	7,46	22,3*	57	
Лейцин	5,27	8,25		63	
Тирозин	2,68	5,80	4,3	32	25
Фенилаланин	2,43	4,78	0,0	29	
Гистидин	4,76	2,94	2,4	19	19
Лизин	8,75	7,60	8,55	52	61
Аргинин	12,75	6,61	7,2	38	43
Триптофан	1,67	2,04	2,1	10	11
Амидный азот	5,54				
Всего	95,81	111,25			

Примечание: Процент азота в белке принят равным 16,7.

* Сумма лейцина и изолейцина.

что актин и тропомиозин можно рассматривать как компоненты миозина. Однако это положение нуждается в дополнительных доказательствах.

Интересные данные о динамике образования мышечных белков (актомиозина и миозина) при регенерации конечностей у тритонов Friturus viridescens были получены с помощью иммунохимического метода Лауфер (Lauter, 1959). Появление контрактильных белков, по-видимому, совпадает во времени с образованием миофибрилл.

Таблица 7

Аминокислотный состав тропомиозина

Название аминокислоты	Процент азота аминокислоты	Процент аминокислоты в белке	Число граммолей аминокислоты в 10^5 г белка	
	Коминц, Хоуг, Симондс и Лаки (1954)			Бэйли (1948)
Цистин	0,55	0,78	6,5	6,3
Аспарагиновая кислота	7,46	11,84	89	68
Треонин	2,33	3,33	28	24
Серин	3,36	4,20	40	42
Глютаминовая кислота	17,70	31,0	211	223
Пролин	0	0	0	11,3
Глицин	1,05	0,94	12,5	13,0
Аланин	9,20	9,78	110	99
Валин	3,18	4,45	38	27
Метионин	1,34	2,38	16	19
Изолейцин	2,43	3,80	28	119
Лейцин	7,46	12,44	95	
Тирозин	1,26	2,72	15	17
Фенилаланин	0,29	0,58	3,5	28
Гистидин	1,38	0,85	5,5	5,5
Лизин	18,40	16,06	110	107
Аргинин	14,10	7,30	42	45
Триптофан	0	0	0	0
Амидный азот	5,35		64	64
Всего	96,86	112,45	851	854

Другие водорастворимые миофибриллярные белки

Среди миофибриллярных белков в различных типах мышц недавно было обнаружено присутствие водорастворимых белков, не идентичных тропомиозину (Амберсон и соавторы, 1956; Сент-Дьердьи и сотр., 1955; Перри и сотр., 1959; Хансон и Хаксли, 1957; Цао и сотр., 1956, 1958; И. И. Иванов и сотр., 1959).

В большинстве случаев здесь речь шла, однако, об открытии не индивидуальных белков, но гетерогенной системы водорастворимых миофибриллярных белков, точнее системы миофибриллярных белков, растворимых в солевых средах с низкой ионной силой.

И. И. Иванов и сотр. предложили называть эти белки «фракцией *T*». Термины *A*-протеин, «экстрапротеин», «*X*-протеин» (Сент-Дьердьи, Хансон и Хаксли, Виллафранка) едва ли смогут в дальнейшем удержаться в науке, так как этим понятиям несомненно соответствуют не индивидуальные белки, но сложные

белковые смеси. Из известных уже белков в них присутствует тропомиозин.

Миофибриллярные «легкорастворимые» белки могут быть получены следующим образом: мышечная кашица прежде всего подвергается исчерпывающей экстракции тем или иным буферным раствором с низкой ионной силой, например фосфатным буфером с ионной силой 0,03, для удаления саркоплазматических белков

Затем миофибриллярные белки извлекаются из мышечного остатка раствором Вебера или другими солевыми средами с высокой ионной силой (например, 0,5—0,6 М KCl) с добавлением АТФ. Полученный экстракт подвергается далее продолжительному диализу против буферного раствора с низкой ионной силой (0,03), или лучше разбавляется чистой водой в соотношении 1 : 15. При этом в осадок выпадают белки актомиозинового комплекса, а в жидкости остаются миофибриллярные белки, растворимые в солевых средах с низкой ионной силой.

Фракционный состав этих белков, выделенных из скелетной мускулатуры, был, по-видимому, впервые изучен Цао и сотр. (1956) и Амберсоном с соавторами (1956). Фракционный состав тех же белков, входящих в состав сердечной и гладкой мускулатуры, исследовался И. И. Ивановым и сотр. (1959), см. также И. И. Иванов, 1959.

По данным Амберсона и сотр. во фракции «водорастворимых» миофибриллярных белков содержится, помимо тропомиозина, новый белок, названный Δ-протеином.

И. И. Иванов и сотрудники обнаружили в этой же фракции белков (фракции *T* по терминологии И. И. Иванова) наличие 3—4 отдельных электрофоретически обособленных белковых компонентов. Один из них, по-видимому, является тропомиозином (см. рис. 7).

Однако количество тропомиозина во фракции *T* невелико. Основной белковый компонент этой фракции представляет собой, вероятно, водорастворимый миофибриллярный белок Цао. Последний, по данным китайской школы биохимиков, отличается от Δ-протеина своим глобулярным строением.

По данным И. И. Иванова и сотрудников, во фракции «*T*», т. е. во фракции миофибриллярных белков, растворимых в солевых средах с низкой ионной силой, содержится, кроме того, довольно значительное количество белков со свойствами водонерастворимых глобулинов. Эти белки выпадают в осадок при диализе против чистой воды и наиболее легко подвергаются спонтанной денатурации, что весьма затрудняет их изолирование и изучение их физико-химических особенностей. Вместе с тем они принадлежат, по-видимому, к числу метаболически наиболее подвижных белков мышечной ткани и наиболее быстро подвергаются обмену с мечеными аминокислотами in vivo (наблюдения В. В. Кадыкова в нашей лаборатории).

Водорастворимый миофибриллярный белок Цао. По данным Цао, в скелетной мышце кролика этого белка содержится около 0,5 г на 100 г сырого веса мышцы. Этот белок имеет глобулярное строение; изоэлектрическая точка его лежит при pH ~ 4.0. По электрофоретической подвижности белок Цао в нейтральной и слабощелочной среде близок к миогену. Константа седиментации $S^0_{20} = 6{,}3$. Аминокислотный состав этого белка, по данным Цао, близок к аминокислотному составу креатинфосфоферазы; белок не имеет концевых NH_2 групп и, по-видимому, является полипептидом с замкнутой с одного конца цепью.

Δ-протеин Амберсона и соавторов. Δ-протеин принадлежит к числу миофибриллярных белков, извлекаемых из мышечной кашицы солевыми растворами с высокой ионной силой (пирофосфатным буфером), но остающихся в надосадочной жидкости после отделения миозина диализом против чистой воды.

Δ-протеин отличается от миозина рядом свойств, в частности более высокой электрофоретической подвижностью. Этот белок образует, по данным Амберсона и сотр., комплекс с миозином, названный ими Δ-миозином. Если раствор Δ-протеина смешать с актомиозином с той же вязкостью, то по Амберсону и соавторам, наблюдается резкое снижение вязкости полученной смеси. Это говорит о наступающей при смешивании Δ-протеина с актомиозином диссоциации актомиозинового комплекса с последующим образованием Δ-миозина. Впрочем, при смешивании Δ-протеина с раствором чистого миозина также наблюдается небольшое снижение вязкости. Причина этого явления — неизвестна.

Авторы разработали два метода выделения и неполной очистки Δ-протеина. Один из них основан на фракционировании мышечных белков с помощью спирта. Другой — на возможности разделения осажденного комплекса Δ-миозина раствором салиргана. Однако ни один из методов не позволяет получать белок в форме вполне гомогенного препарата. В частности, при спиртовом осаждении в белке сохраняется примесь тропомиозина.

По данным Амберсона и сотр., Δ-протеин входит в состав так называемого *D*-протеина, наиболее быстро двигающейся фракции мышечных белков. Однако остается совершенно неясным взаимоотношение этого белка с миоальбумином, так как на электрофореграммах экстрактов, выделенных из цельной мышцы, в работе американских авторов миоальбуминовый пик вообще не фигурирует.

Δ-протеин отличается, по Амберсону и соавторам, высокой вязкостью и принадлежит к числу фибриллярных (волокнистых) белков. Растворы его обладают двойным лучепреломлением в потоке (ДЛП); волокнистое строение его обнаруживается также на электронных микрографах.

Молекула Δ-протеина может подвергаться диссоциации на более мелкие частицы при понижении pH (подкислении). Это вытекает из того факта, что при понижении pH до 2,1 вязкость

Δ-протеина резко падает и уменьшается степень асимметрии его молекул. Подщелачивание снова приводит к реассоциации частиц с образованием исходного Δ-протеина. Авторы высказывают предположение, что Δ-протеин может быть является полимеризованным тропомиозином.

Белки стромы

На долю азота белков стромы поперечнополосатой мускулатуры приходится около 10% всего азота мышечной ткани. Строма скелетных мышц, остающаяся после исчерпывающей экстракции мышечной кашицы солевыми растворами с высокой ионной силой с добавлением АТФ, состоит, по данным Хеландера (Helander, 1957), почти исключительно из соединительнотканных элементов, стенок сосудов, нервов и т. п. Белки, входящие в состав сосудов и нервов, очевидно, не принимают непосредственного участия в осуществлении механической функции мышц. Однако весьма вероятно, что к этой же группе белков относятся и соединительнотканные элементы, входящие в состав различных микроструктур мышечных волокон, в частности обеспечивающих возможность возвращения мышцы после сокращения и последующего перехода в невозбужденное состояние к первоначальной длине покоя. Эти же элементы, возможно, придают мышце и способность оказывать противодействие растяжению. Особенно высоко содержание стромы в различных видах гладкой мускулатуры внутренних органов, а также в эмбриональной поперечнополосатой мускулатуре (см. стр. 136). В последнем случае в состав белков стромы быть может входит часть наиболее легко подвергающихся спонтанной денатурации глобулинов мышечного волокна (см. стр. 112).

Другие белковые вещества, входящие в состав мышечных волокон

Нуклеопротеиды. В мышечной ткани (скелетной, гладкой и сердечной мускулатуре) присутствуют в большем или меньшем количестве нуклеопротеиды, содержащиеся, главным образом, в ядрах мышечных волокон. Количество нуклеопротеидов в мышцах меняется в онтогенезе. Особенно высоким содержанием нуклеопротеидов и дезооксирибонуклеиновой кислоты отличается эмбриональная мышечная ткань (см. гл. VI). В гладкой мускулатуре, например в миометрии, содержание нуклеопротеидов, РНК и ДНК может сильно изменяться при различных функциональных состояниях (например, при беременности).

В обычных препаратах миозина скелетных мышц содержится 0,5—0,8% рибонуклеиновой кислоты, которая не может быть отделена от белка с помощью общепринятых методов очистки миозина. Ее можно, однако, отделить многократным от-

мыванием 10%-ным раствором NaCl, а также частично разрушить, обрабатывая миозин рибонуклеазой (Михали, Лаки, Кноллер — Mihali, Laki, Knoller, 1957).

Миоглобин. В саркоплазме красных мышц важную физиологическую роль играет особый белок — миоглобин, способный подобно гемоглобину, связывать и отдавать кислород при изменении в окружающей среде парциального давления O_2.

Соображение о том, что красный цвет мышц обусловлен не гемоглобином крови, а особым пигментом, по-видимому, впервые было высказано Кюне. Гюнтер предложил называть этот пигмент миоглобином, хотя сам термин «миоглобин» был введен еще в конце XIX в. Мороховецом, назвавшим так фракцию мышечных белков, обладавших свойствами глобулинов. Окончательно неидентичность миоглобина гемоглобину крови была доказана Теореллом.

Миоглобин играет особенно важную роль в снабжении мышцы кислородом в условиях кислородного голодания, например, во время усиленной мышечной деятельности, когда приток артериальной крови к мышечным волокнам в силу чисто механических причин (сдавливания сосудов) оказывается затрудненным. В этих случаях потребность в кислороде в известной мере покрывается за счет диссоциации оксимиоглобина. Содержание миоглобина особенно велико у животных, проводящих часть своей жизни под водой (киты, тюлени и т. п.).

Биологическая роль миоглобина подробно рассматривается в работе П. А. Верболович (1959).

Белки-ферменты. Помимо всех рассмотренных белковых веществ в состав мышц входит множество ферментов, катализирующих самые разнообразные процессы обмена: тканевое дыхание, гликолиз, окислительное фосфорилирование, перенос фосфатных и других групп, обмен белков и липидов и т. д. Эти белки-ферменты локализованы, главным образом, в саркоплазме, особенно высоко их содержание в гранулах (митохондриях).

Из мышечной ткани можно легко получать по Мейергофу активный бесклеточный мышечный сок, сбраживающий углеводы in vitro с образованием молочной кислоты, выделять различные ферменты (дегидрогеназы, цитохромы, флавиновые энзимы, трансаминазы и т. п.). Однако на долю всех этих белков-ферментов приходится лишь сравнительно небольшая часть общего белкового азота мышечной ткани.

В последнее время некоторые ферменты, входящие в состав саркоплазмы мышечных волокон, начали привлекать внимание и врачей клиницистов.

При заболеваниях, связанных с некрозом или дистрофическими процессами в мышечной ткани (например, некрозом отдельных участков сердечной мышцы), наблюдается выход значительных количеств ферментов саркоплазмы в экстрацеллюлярные жидкости, в частности в плазму крови. Таким образом, при ряде

заболеваний (инфаркт миокарда, травмы и заболевания мышц дистрофического характера и др.) резко повышается в крови (плазме крови) содержание таких ферментов, как например лактикодегидрогеназы, трансаминаз, катализирующих переаминирование между глютаминовой и пировиноградной или щавелево-уксусной кислотами, дегидрогеназы яблочной кислоты, альдолазы и ряда других. Имеются указания, что определение трансаминаз и лактикодегидрогеназы в крови может облегчить дифференциальную диагностику инфаркта миокарда и заболеваний печени. Определение альдолазы в плазме крови может представлять также интерес при инфаркте миокарда, при некоторых формах прогрессирующей мышечной дистрофии, а также при ряде других заболеваний (подробнее см. стр. 185 и др.).

Важнейшие небелковые (экстрактивные) азотистые вещества мышц

Как видно из табл. 3, в состав поперечнополосатой мускулатуры, помимо аденозинтрифосфорной, аденозиндифосфорной и адениловой кислот, химическое строение и функции которых были уже рассмотрены ранее, входят креатин, креатинфосфорная кислота, карнозин, ансерин, карнитин и ряд других экстрактивных веществ.

Креатин и креатинфосфат являются важными азотистыми веществами мышц, участвующими в химических процессах, связанных с мышечным сокращением.

Креатин находится в мышцах преимущественно не в свободном состоянии, а в соединении с фосфорной кислотой, т. е. в виде фосфокреатина.

В последние годы в мышечной ткани с помощью метода хроматографического анализа было обнаружено наличие нуклеозидтрифосфатов: гуанозинтрифосфата (ГТФ), инозинтрифосфата (ИТФ) и ряда пиримидиновых нуклеозидтрифосфатов. Однако, концентрация их в мышечной ткани много ниже концентрации АТФ. Препараты АТФ, выделенные из мышц кролика, обычно содержат не более 1—2% ГТФ и УТФ (уридинтрифосфата). О роли этих нуклеозидтрифосфатов, как обязательных компонентов различных ферментных систем, см. литературу (Б. И. Збарский, И. И. Иванов, С. Р. Мардашев, 1960; А. В. Котельникова, 1958; и др.).

Что касается участия пиримидиновых нуклеозидтрифосфатов в двухфазной мышечной деятельности, то этот вопрос изучен еще недостаточно. Недавно Б. Н. Степаненко и Л. Н. Бобровой (1958) было установлено, что одно из уридиновых производных, вероятно, уридиндифосфат, в концентрации 1 : 1 000 000 резко увеличивает амплитуду сокращений сердца лягушки. Вероятно, это вещество играет при сокращении мышц роль важного кофактора.

Относительное содержание важнейших фракций кислотно-

растворимых фосфорных соединений в скелетной мускулатуре (в % кислотнорастворимого фосфора) представлено ниже:

Неорганический фосфат	10
Креатинфосфат	45
Гексозомонофосфат	5
АТФ	35

Большой интерес представляют также экстрактивные азотистые вещества — карнозин, ансерин, карнитин и др., выделенные из мышечной ткани В. С. Гулевичем и его учениками.

Карнозин представляет собой дипептид β-аланилгистидин. Второе азотистое экстрактивное вещество мышц — ансерин (или метилкарнозин) — было получено из мышц птиц почти одновременно Н. Ф. Толкачевской в лаборатории В. С. Гулевича и немецким химиком Аккерманом.

Карнитин можно рассматривать как производное γ-амино — β-оксимасляной кислоты.

Роль этих соединений в мышечной деятельности, однако, все еще остается недостаточно ясной. Интересные данные о содержании карнозина и ансерина в мышцах позвоночных на различных стадиях онтогенеза, позволяющие связывать появление этих азотистых оснований в мышцах с развитием их механической функции, были получены С. Е. Севериным и Н. А. Юдаевым (1951). Школой С. Е. Северина изучался также вопрос о содержании в мышцах различных видов животных карнозина, ансерина и входящей в их состав аминокислоты — гистидина. Исследовалось и влияние карнозина на углеводно-фосфорный обмен мышц. По данным С. Е. Северина, ансерин в опытах in vitro предотвращает набухание митохондрий, что обеспечивает сохранение ими на высоком уровне в течение длительного времени способности к осуществлению сопряженного фосфорилирования. А. Н. Паршин отрицает, однако, на основании работ, проведенных в его лаборатории А. Е. Шерстневым, влияние карнозина и ансерина на отдельные промежуточные реакции углеводного обмена (А. Н. Паршин, 1957; А. Е. Шерстнев, 1958). Из других работ здесь необходимо сослаться на исследования С. Е. Северина и Н. П. Мешковой (1951, 1952, 1953) и обзорные статьи А. Н. Паршина (1941) и А. Н. Паршина и Т. А. Горюхиной (1950, 1951).

К числу азотистых экстрактивных веществ мышц относятся также аминокислоты, мочевина, пуриновые основания, фосфатиды.

Аминокислоты. Аминокислоты всегда встречаются в небольшом количестве в свободной форме в мышечной ткани, поскольку они необходимы для синтеза белков и постоянно образуются в процессе распада и обновления мышечных протеинов.

В состав безбелкового экстракта скелетных мышц входят все аминокислоты, необходимые для синтеза белков в микросомах. В наибольшем количестве в экстрактах из мышц взрослых

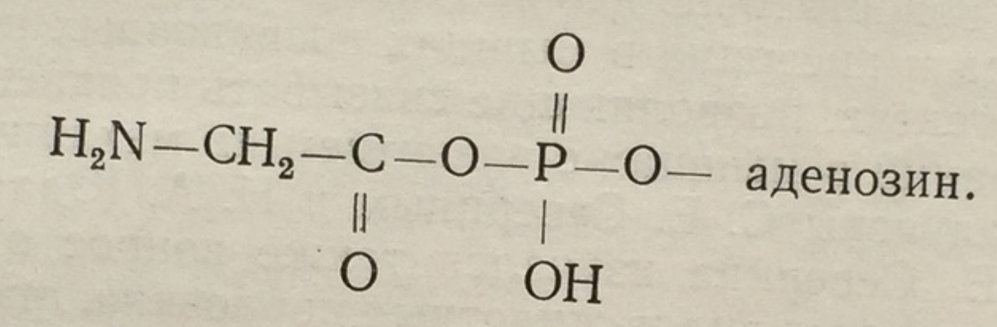
кроликов можно обнаружить с помощью хроматографического метода гистидин.

Меченые аминокислоты (радиометионин и радиоглицин) включаются в белки мышц взрослых животных с незначительной скоростью, во много раз меньшей скорости включения этих же аминокислот в белки печени, слизистой кишечника и ряда других органов, находящихся в состоянии активной физиологической деятельности или интенсивного роста.

С помощью изотопного метода было показано, что включение меченых аминокислот в мышечную ткань растущих организмов, масса которой непрерывно увеличивается, на много выше скорости обновления белков функционально зрелых мышц, рост которых уже закончился.

Как известно, аминокислоты вовлекаются в синтез белка в микросомах при участии РНК (рибонуклеиновой кислоты) не в свободной, а в так называемой «активной» форме.

«Активные» формы аминокислот представляют собой, по-видимому, аминоациладенилаты. Примером активной формы аминокислоты является аденозилгликокол:



Фосфатиды. Фосфатидам, особенно ацетальфосфатидам, как уже указывалось, приписывается важная роль в процессах тканевого дыхания, эти соединения более легко, чем нейтральные жиры, вовлекаются в окислительные реакции. Особенно важную энергетическую роль фосфатиды играют в деятельности сердечной мышцы. Установлено, что содержание фосфатидов в мышцах повышается при тренировке.

Другие азотистые вещества, встречающиеся в небольшом количестве в мышечной ткани, в большинстве случаев являются либо промежуточными, либо конечными продуктами азотистого обмена, находящимися на пути выделения из организма (например, мочевина, пуриновые основания и т. д.).

Важнейшие безазотистые вещества мышц

В состав мышечной ткани входит ряд не содержащих азота соединений, играющих важную роль в обмене веществ мышечной ткани. К числу их относится гликоген, продукты его распада (например, гексозофосфорные эфиры), молочная кислота, в очень небольшой концентрации фосфорные эфиры триоз, пентоз и т. д., инулин, жиры, холестерин и ряд других органических и неорганических соединений. Большинство из названных веществ вовле-

кается в обменные процессы, протекающие в мышцах как при покое, так и особенно во время активной деятельности.

Гликоген. Этот полисахарид является важнейшим субстратом мышечного гликогенолиза (гликолиза) и дыхания. Содержание гликогена в поперечнополосатых мышцах может доходить до 2—3%.

При мышечной работе, особенно в условиях кислородной задолженности, гликоген быстро потребляется. При напряженной мышечной деятельности использование гликогена происходит по преимуществу анаэробным путем с образованием молочной кислоты. Последняя поступает в ток крови и вместе с кровью доставляется в печень, где из молочной кислоты может вновь синтезироваться гликоген.

Количество гликогена в мышцах, так же как и в печени, резко уменьшается при ряде патологических состояний. Х. С. Коштоянц и З. А. Янсон (1950) показали с помощью хроматографического метода, что в денервированных мышцах существенно меняется также химический состав и строение гликогена. Гликоген может образовывать комплексы с миозином.

Жиры и холестерин. Липиды всегда содержатся в мышцах в меняющихся количествах (1—3%). Нейтральные жиры входят главным образом в состав соединительнотканных прослоек. Количество жира сильно зависит от степени упитанности животного. Оно резко снижено при голодании.

Содержание холестерина, его эфиров и комплексов с белковыми веществами может подвергаться некоторым изменениям при различных функциональных и патологических состояниях.

Минеральные элементы

Содержание минеральных элементов (солей) в мышечной ткани таково, что общая ионная сила мышечного сока не превышает 0,15—0,16. Ионы солей играют очень важную роль в мышечной деятельности. Вследствие наличия в мышечных волокнах большого количества анионов АТФ, креатинфосфата, анионов белков и т. п. концентрация ионов Cl в них низка.

Катионы калия, напротив, находятся в мышечной ткани в высокой концентрации. Часть ионов солей, особенно Mg и Ca, связана в мышечных волокнах с белками, часть находится в свободной форме. Обмен (обновление) связанных ионов происходит с меньшей скоростью, чем обмен свободных ионов.

Следует иметь в виду, что ионы, в частности Na и K, распределены в различных морфологических структурах мышечной ткани неравномерно. Так, например, если концентрация K в мышце человека в целом выражается цифрой порядка 90 mM, то в содержимом мышечных волокон концентрация ионов K доходит до 105 mM, а в экстрацеллюлярной (межклеточной) жидкости содержимое K не превышает 4,5 mM. Таким образом, концентрация

K^+ в мышечных волокнах примерно в 20 раз выше, чем в экстрацеллюлярной жидкости.

В отношении Na^+ наблюдается обратная закономерность. Концентрация ионов Na в цельной мышце человека близка к 44.5 mM, в мышечных волокнах она равна 16 mM, а в экстрацеллюлярной жидкости — 148 mM, т. е. в межклеточной жидкости концентрация Na примерно в 10 раз выше, чем в мышечных волокнах (цит. по Ф. Штрауб, 1960).

В настоящее время признается, что изменение концентрации ионов играет основную роль в процессе возникновения возбуждения в различных тканях, в частности в мышцах и нервах (В. Ю. Чаговец, Ж. Леб, В. Нернст, П. П. Лазарев). Возбуждение наступает в результате изменения до определенного порогового значения концентрации ионов на поверхности клеточных мембран. Основные положения этой ионной теории возбуждения изложены в работах Ходжкина (Hodjkin) 1951, 1958.

В сокращении мышечного волокна особенно важное значение имеет внезапное, в момент раздражения, изменение динамического равновесия в распределении ионов K и Na на внешней и внутренней стороне поверхностного слоя мышечного волокна. Это приводит к почти мгновенному возникновению разности потенциалов между поверхностным слоем волокна и его внутренней частью, что внешне проявляется в появлении на месте раздражения зоны электроотрицательности, быстро распространяющейся на соседние участки.

По данным Ходжкина, при возбуждении мышцы наблюдается вхождение в мышечные волокна ионов Na из внешней среды и переход в нее из мышцы ионов K.

Данные, полученные с помощью изотопного метода позволяют считать, что мембраны мышечных волокон более или менее проницаемы для ионов как K, так и Na.

Разница в концентрации этих ионов в волокнах и в экстрацеллюлярной жидкости есть следствие возникновения динамического равновесия, для поддержания которого необходима затрата энергии. Это динамическое равновесие в распределении ионов K и Na между волокнами и внеклеточной жидкостью внезапно изменяется при возбуждении мышцы.

Поскольку для поддержания динамического равновесия в состоянии покоя требуется затрата энергии, освобождающейся при обменных процессах, можно сделать заключение, что изменение равновесия в сторону выравнивания концентраций ионов должно быть связано с освобождением некоторого количества свободной энергии, т. е. возможностью выполнения механической работы. Конкретный механизм использования в мышце этой энергии остается, однако, неясным. Особенно важно, что мышечные «модели», т. е. мацерированные мышечные волокна хорошо сокращаются в присутствии АТФ, несмотря на отсутствие в этом случае разницы в концентрации ионов в волокне и в растворе.

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ГЛАДКИХ ТОНИЧЕСКИХ МЫШЦ

Гладкие мышцы позвоночных животных мезенхимного происхождения отличаются от поперечнополосатых скелетных мышц как по своему гистологическому строению, так и по характеру сократительной деятельности (см. гл. I).

Химический состав гладких мышц изучен менее полно, чем скелетных. В состав гладкой мускулатуры, так же как и в состав поперечнополосатых мышц, помимо белков, входят гликоген, нейтральные жиры и липоиды, в небольшом количестве фосфорные эфиры моносахаридов, фосфотриозы, глюкоза, азотистые экстрактивные вещества, аденозинтрифосфат и другие пуриновые и пиримидиновые нуклеотиды, креатин, креатинфосфат, креатинин, карнозин и ансерин, аминокислоты, мочевина и множество других веществ. Нуклеозидтрифосфаты, в частности АТФ и другие кислотнорастворимые органические фосфорные соединения присутствуют, однако, в гладкой мускулатуре в значительно меньшей концентрации, чем в поперечнополосатых мышцах (табл. 8).

Таблица 8

Кислотнорастворимые Р-соединения в мышцах различных типов
(в мг% Р на сырой вес)

Животные и тип мышц	Общий Р	Общий кислотнорастворимый Р	Неорганический Р	Р-фосфагена	Р АТФ
Кролик					
скелетные мышцы	235	156	16—38	28—65	10—49
миометрий	—	55	19	1,0	1,4
Крыса					
скелетные мышцы	—	148	23,3	50,7	42
миокард	—	100	34,6	11,0	20—32
миометрий	—	43,1	22,2	0,7	2,3

То же можно сказать и о содержании в гладких мышцах экстрактивных веществ типа карнозина и ансерина. В большинстве случаев в гладкой мускулатуре обнаруживаются лишь следы этих дипептидов. Но наиболее характерные и важные особенности в химическом составе гладкой мускулатуры можно обнаружить при изучении ее белковых фракций.

Белки гладкой тонической мускулатуры позвоночных животных

Общее содержание белкового азота в гладких мышцах, как видно из табл. 9, меньше, чем в скелетных. Наибольшее значение имеют данные о фракционном составе миофибриллярных белков, извлекаемых из мышечной кашицы солевыми растворами с вы-

сокой ионной силой (например, раствором Вебера), после предварительного отмывания легко растворимых саркоплазматических белков. Общее содержание миофибриллярных белков в гладкой мускулатуре желудка примерно в два раза ниже, чем в скелетных мышцах (табл. 9).

Но еще более важно, что миофибриллярные белки, как было установлено в последнее время в ряде лабораторий, можно в свою очередь разделить на две группы (см. стр. 111); белки, растворимые в солевых средах с высокой ионной силой (миозин, актомиозин), и белки, растворимые в солевых средах с низкой ионной силой (*А*-протеин, *Х*-протеин, фракция *Т*). Соотношение между этими двумя группами белков в различных типах мускулатуры — неодинаково (см. табл. 9,10). Для быстро сокращающихся скелетных мышц это соотношение (АМ/Т) равно приблизительно $\frac{3,5}{1}$, тогда как для гладких тонических мышц оно колеблется в пределах $^1/_{1,5}$—$^1/_3$.

Таблица 9

Фракционный состав белков различных типов мускулатуры кролика (в мг N на 1 г свежей ткани), по И. И. Иванову и сотр., 1959

Вид мускулатуры	Общий N ткани	Безбелковый N	Белковый N	N саркоплазматических белков	Миофибриллярные белки			Соотношение $\frac{AM}{T}$	Белки стромы
					всего	растворимые в средах с высокой ионной силой (*АМ*)	растворимые в средах с низкой ионной силой (*Т*)		
Скелетная мышца	34,50	4,29	30,21	9,67	17,31	13,48	3,83	$\frac{3,5}{1}$	3,48
Миокард	25,86	2,23	23,63	8,85	7,32	4,40	2,92	$\frac{1,5}{1}$	7,30
Мускулатура желудка	24,65	1,60	23,05	8,67	6,97	2,78	4,19	$\frac{1,5}{1}$	7,16
Миометрий	22,14	1,84	20,30	7,66	3,70	0,93	2,77	$\frac{1}{3}$	8,90

Следует также не упускать из виду, что «актомиозиновая фракция» гладких мышц по ряду свойств (меньшей сократимости нитей, меньшему снижению вязкости в присутствии АТФ, меньшей АТФ-азной активности, большему содержанию нуклеопротеидов и, возможно, других белков типа, например, *L*-меромиозина и т. д.) резко отличается от типичного актомиозина скелетной мускулатуры (И. И. Иванов, 1949, 1950 а и б; И. И. Иванов и Е. Г. Киселева, 1948; И. И. Иванов и В. Д. Блохина, 1955; И. И. Иванов и сотр., 1959).

Весьма вероятно (см. гл. I), что в осуществлении тонической запирательной функции гладких мышц наиболее важную роль играют так называемые «легкорастворимые» миофибриллярные белки, представляющие собой гетерогенные системы, в которые

Таблица 10

Фракционный состав белков различных типов мускулатуры кролика (в % азота фракции к общему азоту ткани), по И. И. Иванову и сотр.

Вид мускулатуры	Безбелковый азот	Азот саркоплазматических белков, растворимых в солевых средах с низкой ионной силой	Миофибриллярные белки		Миофибриллярные белки, растворимые в солевых средах с низкой ионной силой (T)	Соотношение $\frac{AM}{T}$	Строма
			всего	миофибриллярные белки, растворимые в солевых средах с высокой ионной силой (AM)			
Скелетная мышца	12,4	28,0	50,2	39,1	11,1	$\frac{3,5}{1}$	10,1
Мышца сердца .	8,6	34,2	28,0	17,8	11,2	$\frac{1,5}{1}$	28,2
Гладкая мышца желудка . . .	6,5	35,2	28,3	11,3	17,0	$\frac{1}{1,5}$	29,0
Гладкая мышца матки небеременной крольчихи	8,3	34,6	16,7	4,2	12,5	$\frac{1}{3}$	40,4
Гладкая мышца матки беременной крольчихи	8,5	38,0	22,0	—	—	—	31,0

входят тропомиозин, водорастворимый миофибриллярный белок Цао, глобулины типа глобулина *x* Вебера и ряд саркоплазматических белков, более или менее прочно связанных в миофибриллах в единый функциональный комплекс с миозином. Часть из этих белков легко подвергается спонтанной денатурации.

Несомненно, что своеобразие фракционного состава белков мышц различных типов теснейшим образом связано с характером их физиологической деятельности. Здесь можно, например, напомнить, что в локомоторных, т. е. быстро сокращающихся мышцах беспозвоночных животных (например, моллюсков, осьминогов и т. п.) белки актомиозинового комплекса мало отличаются по своим свойствам от актомиозина скелетных поперечнополосатых мышц и присутствуют в значительно большем количестве, чем в тонических мышцах внутренних органов позвоночных. Подробнее этот вопрос рассматривался одним из нас в другом месте (см. И. И. Иванов 1949, 1950 а и б).

Выше уже отмечалось, что по данным ряда авторов, гладкие мышцы отличаются высоким содержанием тропомиозина.

В последние годы внимание многих исследователей было направлено на изучение фракционного состава белков запиратель-

ных мышц моллюсков. Интерес к этому вопросу объясняется тем, что картина рентгеновских дифракционных спектров запирательной мускулатуры моллюсков, по данным Холл, Джакус и Шмитта (1945), Беер (Bear, 1944) и Селби и Беер (Selby a. Bear, 1956), отличается от таковой скелетной мускулатуры млекопитающих. Фибриллы, дающие такие своеобразные рентгенограммы, в особенно большом количестве находятся в медленно сокращающейся (тонической) части двустворчатого аддуктора моллюсков. Эти фибриллы были названы фибриллами типа I или парамиозиновыми фибриллами. Парамиозин, однако, в то время не был выделен препаративно.

Попытку охарактеризовать парамиозин с химической стороны предпринял Бэйли и ряд других авторов.

Бэйли (1956 а и б) показал, что из гладкой, медленно сокращающейся части запирательных мышц моллюсков можно получить с помощью 1 М раствора KCl исключительно вязкий экстракт, который только в слабой степени дает характерные реакции на миозин и актомиозин.

Белок этого экстракта может быть осажден при диализе против растворов с низкой ионной силой (0,2) в форме кристаллических двоякопреломляющих игл. Полученный таким путем белок по ряду свойств (например, по отношению к органическим растворителям) близок к кроличьему тропомиозину. Но, в отличие от тропомиозина, он нерастворим в воде в отсутствие солей и осаждается сернокислым аммонием при значительно более низкой степени насыщения.

Бэйли считает, что выделенный им белок идентичен парамиозину Холл, Джакус и Шмитта. В гладкой (тонической) части аддуктора устрицы и Pinna на долю этого белка приходится от 25 до 30% суммарного белка мышц.

По своему аминокислотному составу парамиозин весьма близок к тропомиозину.

Помимо водонерастворимого парамиозина, который Бэйли рассматривает как водонерастворимую модификацию обычного тропомиозина, в мышцах Cephalopod в небольшой концентрации находится и водорастворимый тропомиозин, который также может быть получен в кристаллической форме.

Таким образом, можно считать, что парамиозин Холла, Джакуса и Шмитта удалось получить в кристаллической форме. Поскольку по своему аминокислотному составу парамиозин мало отличается от кроличьего тропомиозина, Бэйли было предложено рассматривать его как водонерастворимую модификацию последнего белка.

Как уже упоминалась, АТФ-азная активность белков гладкой тонической мускулатуры позвоночных, извлекаемых 0,6 М KCl, значительно ниже (в 10—20 раз) ферментативной активности миозина скелетных мышц (М. Н. Любимова, И. И. Иванов и др.). Большая часть АТФ-азной активности гладкой мускулатуры

связана с водорастворимыми белками, не имеющими непосредственного отношения к сократительной функции мышц.

Характерным является также высокое содержание в гладких тонических мышцах миоальбумина, а также белков стромы. В миометрии, например, на долю белков стромы приходится до 40% всех мышечных протеинов. Как уже указывалось, строма скелетных мышц состоит почти исключительно из соединительнотканных элементов. Состав белков стромы миометрия изучался Нидэм и Коукуэл (Needham a. Cawkwell). Эти авторы нашли, что белки стромы миометрия представлены главным образом коллагеном. Таким образом, можно считать весьма вероятным, что строма гладкой мускулатуры состоит по преимуществу из относительно инертных белков, не принимающих непосредственного участия в мышечной деятельности.

В то же время вполне вероятно, что эти белки придают гладкой мускулатуре добавочную механическую прочность и эластичность и, может быть, играют определенную роль в механизме пассивного возвращения мышцы к исходному состоянию (исходной длине покоя) после активного сокращения.

Существование в гладкой мускулатуре особого белка, получившего первоначально особое название — нуклеотропомиозина — в дальнейшем не подтвердилось. По-видимому, нет достаточных оснований для признания существования и актотропомиозина как индивидуального белка. Вместе с тем, нельзя отрицать возможности взаимодействия между отдельными белками и различными другими веществами, например нуклеиновыми кислотами, с образованием нестойких комплексов переменного состава.

Утверждение Снелман и Теноу (Snellman a. Tenow, 1954) о наличии в экстрактах из миометрия большого количества (до 30—40%) свободного актина не было подтверждено в работе И. И. Иванова и Н. И. Мирович (1959), а также Нидэм и Вилльямс (Needham a. Williams, 1959).

Действительно, по данным И. И. Иванова и Н. И. Мирович, экстракты с высокой ионной силой из измельченной гладкой мускулатуры матки, а также желудка, не обладают или обладают лишь в незначительной степени, способностью взаимодействовать с *L*-миозином с образованием вязкого актомиозина. Это делает совершенно невероятным предположение о наличии в экстрактах из миометрия или мускулатуры желудка свободного актина в сколько-нибудь значительной концентрации.

В то же время имеются данные, позволяющие считать (В. В. Оппель и Т. П. Серебреникова, 1959; В. В. Оппель и Т. Б. Хлюстина, 1960), что в гладкой мускулатуре, в частности в миометрии, актин связан с миозином менее прочно, чем в актомиозине скелетной мускулатуры и отщепляется от этого комплекса уже при простом высаливании белков сернокислым аммонием. Своеобразным артефактом, возникающим в процессе

выделения белков из мышечной ткани, является, по-видимому, и так называемый гистеромиозин (А. Д. Браун и Н. И. Мирович, 1956).

Другие химические вещества

Содержание жиров и липоидов в гладкой мускулатуре может колебаться иногда в весьма широких пределах. Концентрация этих веществ меняется в зависимости от многих условий: вида животного, особенностей его обитания, функционального состояния исследуемого органа, например матки и т. д. Все сказанное в полной мере относится и к содержанию в гладкой мускулатуре гликогена.

Концентрация различных минеральных элементов (Na, K, Mg, Ca, Cl, P и т. д.) в гладкой мускулатуре в общем близка к таковой в скелетных мышцах.

СЕРДЕЧНАЯ МЫШЦА (МИОКАРД)

По своему химическому составу, как видно из табл. 9 и 10, сердечная мышца занимает промежуточное положение между скелетной и гладкой тонической мускулатурой.

На некоторые особенности в химическом составе миокарда было уже обращено внимание в главе I.

Содержание холестерина и фосфолипидов в сердечной мышце вдвое выше, чем в скелетной. Из фосфатидов, помимо лецитина и кефалина, в состав миокарда входит сфингомиелин.

ГЛАВА VI

БЕЛКИ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ В ОНТОГЕНЕЗЕ

Эмбриональная мышечная ткань по своему химическому составу значительно отличается от функционально зрелой мускулатуры.

В мышцах эмбрионов содержится значительно больше воды, чем в одноименных мышцах взрослых особей. В соответствии с этим в мускулатуре эмбрионов содержание белка, считая на сырую ткань, оказывается более низким, чем в мышечной ткани животных того же вида в постнатальном периоде развития. У куриного эмбриона, по данным Г. Е. Владимирова (1940), на 1 г сырой мышечной ткани приходится 10 мг белкового азота, тогда как у четырехдневных цыплят — 32 мг белкового азота.

По данным Е. Н. Асмоловой (1936), содержание воды в мышцах кролика в онтогенезе меняется следующим образом.

Возраст кролика в днях	Вода в %
Эмбрионы 20-дневные	88,31
Крольчата:	
1-дневные	82,16
5-дневные	80,00
10-дневные	78,5
15-дневные	79,00
30-дневные	79,5
60-дневные	76,45
Взрослые кролики	74,70

Этот же автор (Е. Н. Асмолова, 1936) в лаборатории Ю. М. Гефтер изучала содержание в мышцах кролика остаточного азота и аминоазота в онтогенезе.

Остаточный азот по мере развития плода постепенно нарастает при пересчете на сухой остаток. Так, у 20-дневного эмбриона было найдено 157 мг% остаточного N, после рождения у однодневного кролика — 218 мг%, у взрослого животного — 458 мг%.

Эти данные были подтверждены в нашей лаборатории Н. И. Лопатиной. Об изменении в онтогенезе концентрации отдельных аминокислот и дипептидов в безбелковом фильтрате мышечных экстрактов сообщалось уже в главе V.

Вопрос о формировании и динамике накопления мышечных белков в онтогенезе исследовался рядом авторов. Особое внимание было обращено на выявление связи между формированием контрактильного белка мышц на различных стадиях эмбрионального и постнатального развития животных и развитием сократительной функции.

Изучение контрактильного белка (миозина) эмбриональной мышечной ткани было начато в 1940 г. Г. Е. Владимировым. Этот автор обнаружил низкое содержание миозина и относительно высокое содержание миостромина в функционально незрелой мышце (см. также, Е. Я. Гейман, 1940).

Изучение белков актомиозинового комплекса с применением новых методов исследования, введенных в мышечную биохимию Сент-Дьердьи, в онто- и филогенезе было предпринято, по-видимому, впервые И. И. Ивановым с сотрудниками. В 1948 г. И. И. Иванов и Б. С. Касавина установили, что в мышцах новорожденных мышат и крысят и в мускулатуре эмбрионов морских свинок, лишенных еще волосяного покрова, типичные белки актомиозинового комплекса присутствуют лишь в очень небольшом количестве (табл. 11). Так, относительная вязкость растворов мышечных белков новорожденных мышат и крысят (первый день постнатальной жизни) снижается при добавлении АТФ весьма незначительно (от 0 до 10%). При выдувании этих белковых растворов в воду нити или вовсе не получаются, или если получаются, не сокращаются в присутствии АТФ. Наконец, экстрагированные из мышечной ткани новорожденных мышат и крысят белки не соединяются с актином. Отмытые мышечные волокна эмбрионов и новорожденных животных не реагируют или очень

Таблица 11

Взаимодействие контрактильных мышечных белков на разных стадиях онтогенеза с АТФ
(по И. И. Иванову и Б. С. Касавиной (1948)

Животные	Мышцы	Число дней, прошедших с момента рождения	Снижение относительной вязкости актомиозина при добавлении АТФ (в %)	Сокращение актомиозиновых нитей при добавлении АТФ (в %)	Сокращение срезов мышц, вымоченных в дистиллированной воде при добавлении АТФ (в %)	Соединение „миозиновой фракции" ткани с актином поперечнополосатых мышц	Примечание
Крысята	m. quadriceps, m. gastrocnemius	1	Не снижается или снижается очень незначительно (до 10 %)	Не сокращаются	Не сокращаются	Не соединяется	Белки как короткой, так и длительной экстракции
»	То же	2	0—12	То же	Не сокращаются или слабое сокращение лишь в отдельных волокнах	То же	
»	» »	3	14—17	» »	Отдельные участки обнаруживали признаки сокращения	» »	
»	» »	8	27—46	—	—	—	Как и у взрослых крыс даже при короткой экстракции получался вязкий актомиозин
»	» »	14	46	49—67	Сокращаются	—	
»	» »	17	55	60—61	»	—	
»	» »	35	57	49—67	»	—	

Продолжение

Морские свинки	Мышцы конечностей	Эмбрионы не установленного возраста (лишенные волосяного покрова)	0	Не сокращаются	Не сокращаются	Не соединяются
То же	То же	1	60	60—63	Сокращаются	Соединяется
» »	» »	4	77	55—62	Резкое сокращение	То же
Мышата	m. quadriceps m. gastrocnemius	1	0—6	Не сокращаются	Не сокращаются; только в отдельных волокнах слабые признаки сокращения	Не соединяется
»	То же	2	—	То же	То же	То же
»	» »	9	14	» »	» »	» »
»	» »	15	56	58—66	Резко сокращаются	Соединяется

Таблица 11

Взаимодействие контрактильных мышечных белков на разных стадиях онтогенеза с АТФ

(по И. И. Иванову и Б. С. Касавиной (1948)

Животные	Мышцы	Число дней, прошедших с момента рождения	Снижение относительной вязкости актомиозина при добавлении АТФ (в %)	Сокращение актомиозиновых нитей при добавлении АТФ (в %)	Сокращение срезов мышц, вымоченных в дистиллированной воде при добавлении АТФ (в %)	Соединение „миозиновой фракции" ткани с актином поперечнополосатых мышц	Примечание
Крысята	m. quadriceps, m. gastrocnemius	1	Не снижается или снижается очень незначительно (до 10 %)	Не сокращаются	Не сокращаются	Не соединяется	Белки как короткой, так и длительной экстракции
»	То же	2	0—12	То же	Не сокращаются или слабое сокращение лишь в отдельных волокнах	То же	
»	» »	3	14—17	» »	Отдельные участки обнаруживали признаки сокращения	» »	
»	» »	8	27—46	—	—	—	Как и у взрослых крыс даже при короткой экстракции получался вязкий актомиозин
»	» »	14	46	49—67	Сокращаются	—	
»	» »	17	55	60—61	»	—	
»	» »	35	57	49—67	»	—	

Продолжение

Морские свинки	*Мышцы конечностей*	*Эмбрионы не установленного возраста*	*0*	Не сокращаются	Не сокращаются	Не соединяются

Продолжение

Морские свинки	Мышцы конечностей	Эмбрионы не установленного возраста (лишенные волосяного покрова)	0	Не сокращаются	Не сокращаются	Не соединяются
То же	То же	1	60	60—63	Сокращаются	Соединяется
» »	» »	4	77	55—62	Резкое сокращение	То же
Мышата	m. quadriceps m. gastrocnemius	1	0—6	Не сокращаются	Не сокращаются; только в отдельных волокнах слабые признаки сокращения	Не соединяется
»	То же	2	—	То же	То же	То же
»	» »	9	14	» »	» »	» »
»	» »	15	56	58—66	Резко сокращаются	Соединяется

слабо реагируют сокращением на добавление аденозинтрифосфата.

С другой стороны, белки, входящие в состав тех же мышц (quadriceps и m. gastrocnemius) новорожденных морских свинок, почти не отличаются по своим свойствам (способности реагировать сокращением на АТФ и соединяться с актином) от белков мышц взрослых животных. Таким образом, типичный контрактильный белок поперечнополосатых мышц — актомиозин (так же как и миозин) накапливается в значительном количестве в мышцах животных различных видов в разные сроки эмбрионального или постнатального развития. Поскольку в процессе развития нервно-мышечного прибора в эмбриональном и постнатальном периодах жизни животного тоническая сократительная реакция с течением времени заменяется нетонической (см., например, Л. А. Орбели, 1938; А. Т. Худорожева, 1947), И. И. Ивановым и Б. С. Касавиной (1948) было высказано предположение, что изменение белкового состава мышц у различных видов животных в последние дни эмбриональной или в первые дни постнатальной жизни совпадает с развитием волокон, способных к выраженной быстрой сократительной реакции тетанического характера. Эти наблюдения были затем расширены Б. С. Касавиной (1949, 1952) на ряде других объектов: мышцах эмбриона человека, мускулатуре птиц — кур, грачей и т. д. Во всех случаях отмечалось наличие определенного параллелизма между динамикой и сроками накопления актомиозина в мышечной ткани и способностью животного к самостоятельному существованию в момент рождения.

В 1948 г. была опубликована также работа Герман и Николас (Herrmann и. Nicholas), которые установили, что в скелетных мышцах крыс количество миозина остается малым до второго дня постнатальной жизни, а затем быстро возрастает. Общее количество растворимых при низкой ионной силе мышечных белков, напротив, по данным этих авторов, изменяется после рождения лишь незначительно.

Вопросу об изменении контрактильных белков скелетных мышц цыплят в течение эмбрионального и постнатального развития была посвящена также работа Чапо и Герман (Csapo a. Herrmann, 1951). Авторы, пользуясь вискозиметрическим методом определения актомиозина и миозина, в основном подтвердили данные И. И. Иванова и Б. С. Касавиной и показали, что накопление актомиозина в мышечной ткани цыплят происходит в относительно поздней стадии развития.

Обстоятельное изучение фракционного состава белков мышц эмбрионов кролика с применением метода электрофореза провел в 1952 г. Крепакс. Этот автор отмечает, что на электрофореграммах белков скелетных мышц эмбрионов отчетливо выявляются пики, соответствующие белковым фракциям, которые можно было бы рассматривать как фракции α- и β-миозина Дюбюиссона (т. е. как актомиозиновую и миозиновую фракции). В то же вре-

мя, однако, Крепакс подчеркивает, что по величине электрофоретической подвижности эти фракции заметно отличаются от актомиозина и миозина, входящих в состав скелетных мышц взрослых кроликов. Таким образом, Крепакс не считает возможным отождествлять эти фракции с типичным актомиозином и миозином мышц взрослых животных.

Дальнейшее развитие эти исследования получили в работе И. И. Иванова, В. А. Юрьева, В. В. Кадыкова и др. (1956). Авторы исследовали с помощью электрофоретического метода фракционный состав соматической мускулатуры кроликов на различных стадиях эмбрионального и постнатального развития, сопоставляя полученные данные с характером сократительной реакции отмытых мышечных волокон и белковых гелей на АТФ. При этом, так же как и в работе Крепакс, было обнаружено значительное своеобразие в фракционном составе белков эмбриональной мускулатуры по сравнению с таковым зрелой мышцы, выражающееся в резком уменьшении и изменении формы пика, соответствующего актомиозиновой фракции. Последнее находится в согласии как с приведенными выше данными Крепакс, так и с почти полным отсутствием у эмбриональных мышечных белков способности к характерной реакции с АТФ; кроме того, на электрофореграммах эмбриональной мускулатуры отмечается резкое увеличение наиболее подвижной фракции мышечных белков, состоящей в основном из миоальбумина (см. рис. 14).

Как уже указывалось, при экстрагировании измельченных мышц взрослых животных солевыми растворами с ионной силой около 0,4 в течение 24 часов, пик, соответствующий альбуминовой фракции, на электрофореграммах мышечных белков едва обнаруживается. В эмбриональной же мускулатуре на долю этой фракции, по данным И. И. Иванова, В. А. Юрьева и др. (1956), напротив, может приходиться до 40—50% всего количества экстрагируемых белковых веществ.

Таким образом, на основании электрофоретического и биохимического изучения состава белков эмбриональной мускулатуры вышеупомянутые авторы приходят к выводу о существенном изменении в онтогенезе животных фракционного состава белков поперечнополосатой мускулатуры в сторону обогащения ее на определенных стадиях развития — эмбрионального или постнатального — актомиозином. Предшественником актомиозина, очевидно, являются белки проактомиозинового комплекса.

На электрофореграммах белков эмбриональной мускулатуры сохраняются пики, занимающие место, соответствующее актомиозиновой и миозиновой фракциям, но отличающиеся от этих фракций по своей подвижности (Крепакс, 1952). Именно эти белковые вещества, по-видимому, в значительной мере представленные нуклеопротеидами, и следует рассматривать как белки проактомиозинового комплекса. Во всяком случае их, очевидно, нельзя отождествлять с легкорастворимой при низкой ионной силе

миоальбуминовой фракцией. В какой мере метамиозин Марко-Ребер, Шапира и Дрейфус (Marcaud-Raeber, Schapira и Dreyfus, 1959) можно рассматривать как промиозин — в настоящее время сказать еще трудно.

Вместе с тем, необходимо подчеркнуть, что для эмбриональной мускулатуры очевидно не случайным является высокое содержание в ней миоальбумина. Этот протеин, идентичный или очень близкий, по данным Гитлин и сотр. (1955), к альбумину сыворотки крови, возможно, используется в качестве исходного источника белкового азота при построении тех или иных мышечных белков.

В докладе, прочитанном одним из нас в январе 1958 г. на конференции Института биологической и медицинской химии АМН СССР (см. И. И. Иванов. Актуальные вопросы современной биохимии, 1959) было высказано следующее соображение: указывалось, что после опубликования работ Варга можно допустить, что проактомиозиновый комплекс состоит в основном из филогенетически более древнего *L*-меромиозина, не обладающего АТФ-азной активностью, но являющегося, по данным Варга и сотрудников (1955 а и б), носителем холинэстеразных свойств миозина[1]. Действительно, белки эмбриональных скелетных мышц отличаются очень низкой АТФ-азной и высокой холинэстеразной активностью, которая, по данным А. Г. Гинецинского (1947), характерна для эмбриональных мышц с тоническим типом сокращения. В процессе эмбрионального и постнатального развития эта тоническая реакция сменяется тетанической; одновременно мышечный белок обогащается *H*-меромиозином — носителем АТФ-азной активности. К этому, возможно, и сводится процесс «созревания» контрактильного мышечного белка в онтогенезе.

Впрочем, мы подчеркивали, что это положение требует еще прямых доказательств и что механизм созревания белков актомиозинового комплекса может быть и совершенно иным.

В последнее время изучение с новой стороны белков эмбриональной мышечной ткани было предпринято И. И. Ивановым, М. М. Степановой и В. А. Юрьевым. Основное внимание ими было обращено на особенности фракционного состава миофибриллярных белков, в частности, на содержание в функционально незрелой мышечной ткани миофибриллярных белков, растворимых в солевых средах с низкой ионной силой, но связанных в миофибриллах с актомиозином в единый комплекс и извлекаемых поэтому из мышечной кашицы лишь солевыми растворами с высокой ионной силой ($\mu \sim 0{,}4$).

Как оказалось, по содержанию легкорастворимых миофиб-

---

[1] Данные Варга о наличии у *L*-меромиозина высокой холинэстеразной активности нуждаются, однако, в подтверждении. И. И. Иванов и Н. И. Мирович не могли обнаружить холинэстеразной активности в препаратах очищенного миозина, хотя эта активность была хорошо выражена в белках фракции *T*.

риллярных белков эмбриональная мышечная ткань значительно отличается от функционально зрелой скелетной мускулатуры. Так, если в скелетных мышцах соотношение АМ (актомиозина) к фракции *Т* (миофибриллярным белкам, растворимым в солевых средах с низкой ионной силой) равно 3,5/1—4/1, то в эмбриональной скелетной мускулатуре отношение АМ/Т равно приблизительно 1/1.

При этом следует еще раз подчеркнуть, что термин «актомиозин» при работе с эмбриональной мышечной тканью может быть использован для обозначения фракции, соответствующей по способу получения актомиозину, лишь условно. Эта фракция по ряду свойств, как уже отмечалось, резко отличается от актомиозина. Кроме того, в эту фракцию несомненно попадает и значительное количество нуклеопротеидов, РНК (рибонуклеиновой кислоты) и ДНК (дезоксирибонуклеиновой кислоты) ядер клеток. По данным Робинзона (Robinson, 1952) у 14-дневного куриного эмбриона около 60% белков «миозиновой» фракции приходится, например, на долю нуклеопротеидов. Эти сложные белки, как уже указывалось, экстрагируются из мышечной кашицы вместе с актомиозином солевыми растворами с высокой ионной силой и выпадают в осадок при диализе или при разбавлении.

Около 80% нуклеиновых кислот, входящих в состав эмбриональных мышечных нуклеопротеидов, представлены дезоксирибонуклеиновой кислотой.

По мере развития эмбриона содержание нуклеопротеидов и нуклеиновых кислот в мышечной ткани быстро уменьшается (Робинзон, 1952; Б. С. Касавина, 1955). Изменяется и соотношение РНК/ДНК в сторону превалирования РНК.

При обсуждении вопроса о природе белков проактомиозинового комплекса нельзя не упомянуть и о гипотезе Бэйли, согласно которой тропомиозин рассматривается как предшественник миозина. Однако, это положение отнюдь нельзя считать доказанным. Робинзон (1952) не обнаружил, например, повышенного содержания тропомиозина в эмбрионе курицы. По этому вопросу имеется большая литература (подробнее см. обзор Пэрри, 1956).

Таким образом, в настоящее время еще трудно достаточно точно охарактеризовать природу и свойства входящих в состав миофибрилл эмбриональной мышечной ткани белков проактомиозинового комплекса, в частности промиозина, хотя самый факт существования этих белков не вызывает ни малейшего сомнения.

Чрезвычайно заманчивой кажется перспектива изучения механизма превращения белков проактомиозинового комплекса в актомиозин функционально зрелой мышечной ткани. В этом отношении многого можно ожидать от использования метода изотопной индикации. Известно, что скорость обновления мышечных белков, в частности миозина и актина, у взрослых животных весьма мала.

По данным Велик (Velick, 1956) в скелетной мускулатуре взрослого кролика с наибольшей скоростью обновляется фракция *L*-меромиозина (период полураспада — 20 дней), менее интенсивно идет обновление тропомиозина, фосфорилазы и альдолазы; с наименьшей скоростью обновляются актин и особенно *H*-меромиозин (полураспад равен 80 дням).

Однако, скорость обновления мышечных белков на ранних стадиях онтогенеза оказывается совершенно иной. Этот вопрос изучался в нашей лаборатории В. В. Кадыковым. По данным В. В. Кадыкова, метаболически наиболее подвижными белковыми фракциями в скелетной мускулатуре, как взрослых животных, так и эмбрионов, являются водонерастворимые глобулины (глобулин *X* Вебера) и белки фракции *T* (в которые также входит некоторое количество глобулинов). Интенсивность включения радиоглицина как в общий белок мышц, так и в отдельные белковые фракции у эмбрионов в несколько раз выше, чем у взрослых особей. Радиоактивность суммарного белка мышц эмбрионов кролика, например, в 10 раз превышает радиоактивность мышечных белков взрослого животного. Это вполне соответствует более интенсивному синтезу мышечных белков на ранних стадиях онтогенеза.

К числу метаболически наиболее активных мышечных белков у эмбрионов принадлежат и белки стромы. Весьма вероятно, что это объясняется относительно высоким содержанием в белках стромы наиболее лабильных водонерастворимых глобулинов, подвергающихся спонтанной денатурации в процессе измельчения и обработки мышечной ткани растворами, применяемыми для извлечения протеинов. Высокую скорость включения меченых аминокислот в белки актомиозиновой и в меньшей степени коллагеновой фракции мышц эмбрионов курицы наблюдали Герман, Лерман и Уайт (Herrmann, Lehrmann, White, 1958). По мнению этих авторов миозин синтезируется непосредственно из аминокислот. Предшественником же коллагена, в согласии с взглядом В. Н. Ореховича (1947), является проколлаген.

Наличие связи между накоплением актомиозина в эмбриональной мышце по мере развития плода и возрастанием АТФ-азной активности в мышечных экстрактах отмечалось рядом автором (см., например, Муг — Moog, 1947; Виллафранка, 1956; Герман и Николас, 1948; Робинзон, 1952). По данным последнего автора активность АТФ-азы «миозиновой» фракции скелетной мускулатуры эмбрионов крыс выражается 200—250 единицами (в *Qp*), т. е. примерно в 10 раз ниже активности миозиновой АТФ-азы взрослых животных.

Эмбриональная мышечная ткань существенно отличается от функционально зрелой скелетной мускулатуры по фракционному составу белков не только миофибрилл, но и саркоплазмы. Эти данные были впервые получены Крепакс (1952). Как уже отмечалось, наиболее характерным для эмбриональной мышечной ткани

является резко выраженное повышенное содержание в ней миоальбумина (рис. 14).

Эта же закономерность наблюдается, по данным В. В. Кадыкова, полученным в нашей лаборатории, и при изучении фракционного состава мышечного сока, состоящего также из белков, растворимых в солевых средах с низкой ионной силой (И. И. Иванов, А. В. Герасимова, М. Л. Цимблер, 1953).

Результаты электрофоретического изучения растворимых при низкой ионной силе белков эмбриональных мышц (альдолазы,

Рис. 14. Электрофореграмма белков скелетных мышц эмбрионов.

глицероальдегидразы, фосфорилазы и миоальбумина) отражены в работе Б. С. Касавиной и Ю. М. Торчинского (1956). Эти авторы подтвердили имеющиеся в литературе данные о высоком содержании миоальбумина в экстрактах из эмбриональной мышечной ткани ряда животных. Одновременно они отмечают повышенное содержание в этих же экстрактах белка, близкого или идентичного по электрофоретической подвижности к фосфорилазе. С другой стороны, белки, соответствующие по литературным данным другим ферментам гликогенолиза, по наблюдениям Б. С. Касавиной и Ю. М. Торчинского, содержатся в эмбриональной мышечной ткани в меньшем количестве и качественно отличаются от тех же белков мышц взрослых животных.

Однако, по данным В. В. Кадыкова, в саркоплазме эмбрионов при электрофоретическом исследовании (электрофорез на бумаге) при определенных условиях обнаруживается большее число белковых фракций, чем у взрослых животных.

Б. С. Касавина и М. В. Уманская (1958) исследовали интенсивность обновления водорастворимых белков мышц в онтогенезе. По их данным, S^{35} метионин включается во фракции саркоплазматических белков мышц эмбрионов с большей интенсивностью, чем в соответствующие белки взрослых животных.

Весьма характерным является высокое содержание в эмбриональной мышечной ткани белков стромы. Эти данные находятся в полном соответствии с результатами более ранних работ, о которых уже упоминалось в начале этой главы.

Здесь же можно напомнить, что по данным И. И. Иванова, В. В. Кадыкова и В. А. Юрьева (1959) эмбриональная мышечная плазма отличается чрезвычайно высоким содержанием (до 42%) белков глобулинового типа, выпадающих в осадок при достаточно продолжительном диализе мышечного сока против дистиллированной воды. Эти глобулины принадлежат к числу наиболее лабильных мышечных белков, подвергающихся в большей или меньшей степени спонтанной денатурации при самых различных воздействиях (например, при диализе).

Необходимо отметить, что все приведенные выше данные об изменении мышечных белков в онтогенезе относятся почти исключительно к скелетной мускулатуре. В литературе почти нет работ, посвященных вопросу об изменении белков гладкой мускулатуры внутренних органов в процессе развития организма. Между тем этот вопрос также представляет весьма значительный интерес.

Надо думать, что исследования по биохимии мышечной ткани различных типов в онтогенезе в ближайшие годы займут достаточно видное место в биохимической литературе.

Из обзорных работ, посвященных проблеме эволюции мышечных белков, необходимо назвать ряд статей В. В. Оппеля (1958, 1959).

ГЛАВА VII

ДАННЫЕ О ХИМИЧЕСКИХ ПРЕВРАЩЕНИЯХ, СНАБЖАЮЩИХ ЭНЕРГИЕЙ РАЗЛИЧНЫЕ ВИДЫ ПОДВИЖНЫХ КЛЕТОК И ОДНОКЛЕТОЧНЫХ ОРГАНИЗМОВ

После того как на мышцах был в основном изучен механизм важнейших биохимических превращений, снабжающих мышечные клетки энергией, необходимой для выполнения их механических функций, естественно, возник вопрос о возможности перенесения этих представлений и на другие виды клеток, способных к движению.

Необходимо отметить, что способность многих микроорганизмов, как сапрофитных, так и патогенных, использовать энергию

аноксидативных процессов для целей движения никогда не вызывала сомнений, поскольку речь шла об организмах, принадлежащих к группе облигатных или факультативных анаэробов. К такого рода микроорганизмам, помимо подвижных анаэробных бактерий, относятся различные виды паразитических кишечных протозоа (Entamoeba histolytica, Balantidium coli, Trichomonas faecalis), многие трипанозомы и др.

Процессами, доставляющими анаэробно живущим организмам энергию, необходимую для движения, являются те же экзотермические превращения, которые определяют основной тип обмена данного организма (молочнокислое, валериановокислое, маслянокислое брожение и др.). Однако это весьма правдоподобное предположение нуждалось еще в каждом отдельном случае в экспериментальном доказательстве.

Изучение химической динамики подвижных клеток и подвижных микроорганизмов развивалось за последние два-три десятилетия главным образом по линии, предуказанной мышечной биохимией. Особенно много внимания уделялось выяснению вопроса, до каких пределов простирается сходство химических механизмов сокращения поперечнополосатого мышечного волокна и более примитивных органелл движения — жгутиков, ресничек и др. Более подробно этот вопрос рассматривается в специальных монографиях и статьях, посвященных химической динамике подвижных клеток (см. например, И. И. Иванов, 1950 б; И. И. Иванов и Н. И. Мирович, 1958).

Здесь мы считаем нужным напомнить, что способность к перемещению в пространстве при помощи специальных органов и органелл движения свойственна, как известно, по преимуществу организмам, относящимся к миру животных, хотя некоторой сократимостью и подвижностью обладает и протоплазма растительных клеток.

Наиболее примитивной формой движения протоплазмы является так называемое амебоидное движение, при котором клетка передвигается посредством псевдоподий, служащих одновременно и для захватывания пищи. Эти псевдоподии можно рассматривать как результаты аполярного перемещения частиц протоплазмы, свойственного в той или иной степени любому ее участку. Движение при помощи различных типов псевдоподий — характерная особенность всех голых протозоа. Тип псевдоподий в некоторых случаях, например, у корненожек, является даже важным признаком для систематики этих организмов. Амебоидное движение может наблюдаться также и у клеток высших животных, например, у лейкоцитов, особенно в эмбриональной стадии развития.

Что касается причин, вызывающих появление на поверхности клеток тех или иных форм псевдоподий, то до недавнего времени образование последних чаще всего связывалось с внезапным снижением поверхностного натяжения на определенных участках

клеточной мембраны — пелликулы клетки — в результате местных сдвигов в концентрации водородных ионов. Другие теории объясняли амебоидное движение клетки периодическим изменением осмотического давления, быстрым набуханием и отбуханием коллоидов плазмы, вследствие, например, перезарядки коллоидных частиц и т. д. Но и в этих случаях первопричиной наступающих коллоидно-химических изменений в белках плазмы считалось образование кисло или щелочно реагирующих продуктов обмена (например, молочной кислоты, аммиака и т. п.). Один из нас еще в 1942 г. (И. И. Иванов, 1942; см. также И. И. Иванов, 1943, 1950) по этому поводу писал следующее: «Все эти представления, по крайней мере, в их первоначальной формулировке, в настоящее время должны быть признаны слишком примитивными. В свете новейших данных о механизме сокращения фибриллярных контрактильных белков мышц феномен сократимости протоплазмы и других видов клеток едва ли может быть сведен только к упомянутым выше коллоидным или физико-химическим явлениям, возникающим в результате местного изменения активной реакции (pH). Полностью признавая известное значение этих моментов, можно в то же время думать, что сократимость протоплазмы обусловлена особыми контрактильными или сократимыми белками волокнистого строения, обладающими способностью к внезапному изменению своего коллоидного состояния (степени гидратации, и возможно, размера мицелл) в результате химического взаимодействия с некоторыми «богатыми энергией» веществами типа аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ)».

Из приведенного текста совершенно ясно видно, что предположение о важнейшей роли нуклеозидтрифосфатов в осуществлении механической функции подвижных клеток возникло сразу же после опубликования основных работ, установивших роль АТФ в механизме мышечного сокращения.

Значительно более совершенной формой движения, обеспечивающей возможность относительно весьма быстрого перемещения микроорганизмов в пространстве, является движение посредством ундулиподий. Эти движения производятся уже постоянно существующими органеллами — плазматическими отростками, жгутиками или ресничками, которые у каждой данной клетки встречаются в определенном количестве и расположены в определенном порядке. Общий характер этих движений сводится к попеременному сгибанию и выпрямлению или вращению органов движения.

Образование специальных сократительных органелл, обладающих волокнистой структурой, на определенной ступени филогении простейших организмов не исключает, разумеется, возможности иных форм движения внутри протоплазмы клетки, например, перемещения вакуолей с запасными пищевыми веществами и т. п.

Движение посредством ундулиподий является характерным признаком всех Flagellata и Ciliata, зооспор водорослей и грибов, а также сперматозоидов высших животных и растений, клеток мерцательного эпителия и некоторых других клеток. Между двумя формами движения простейших организмов — амебоидным движением и движением посредством ундулиподий — нельзя однако, провести резкой грани, поскольку были описаны промежуточные формы клеток, передвигающихся посредством псевдоподий, производящих внезапные, иногда даже синхронные вращения или маятникообразные движения.

Совершенно не касаясь здесь тонкой структуры органелл движения низших организмов и их кинематики, мы остановимся все же несколько подробнее на тех факторах, которые лежат в основе этих движений.

Обычно активным сократительным элементом любой органеллы движения считают не относительно более твердую скелетную нить реснички или жгутика [1], которой приписывают роль антагонистически действующего упругого разгибателя, но жидкую плазму или специальную сократимую фибриллу (мионему). При этом, как и в случае амебоидного движения, причину подвижности органеллы, а также мионемы до недавнего времени обычно связывали с внезапным изменением на определенных ее участках поверхностного натяжения, возникновением электрических зарядов, осмотических сил и пр.

По поводу всех этих представлений можно сделать те же замечания, которые высказывались уже при беглом рассмотрении теории амебоидного движения клетки. Несомненно, и здесь никоим образом нельзя упускать из виду возможности внезапных изменений коллоидного состояния контрактильных белков органеллы движения в результате химического взаимодействия их с теми или иными богатыми энергией субстанциями, как это имеет место, например, при сокращении миофибриллы.

Действительно, как было показано еще в 1873 г. Энгельманом (Engelman), самые различные органеллы движения (жгутики, реснички и пр.) обладают способностью к двойному луче- или свето-преломлению.

«Сокращение, где бы и в какой форме ни встречалось,— пишет этот автор,— связано с присутствием двоякопреломляющих одноосных частиц, оптическая ось которых совпадает с направлением укорочения».

Эта способность к двойному лучепреломлению сближает контрактильное вещество примитивных органелл движения с наиболее изученным субстратом мышечного сокращения — актомиозином. Последний, как известно, обнаруживает двойное лу-

---

[1] Существование таких эластических скелетных нитей в настоящее время доказано у многих видов подвижных клеток. Особенно интересные данные об их структуре были получены в последние годы с помощью электронной микроскопии (см. Shinya Inoué. Rev. modern physics, 1959, 31, 402).

чепреломление не только в составе мышечного волокна, но также in vitro в растворах, находящихся в движении (явление двойного лучепреломления в потоке), а отчасти и в нитях, полученных путем выдувания белка в воду.

Интересно, что двойное лучепреломление как анизотропного вещества миофибрилл, так и различных других сократимых образований резко уменьшается при сокращении соответствующих органов или органелл движения.

Таким образом, можно действительно думать, что сокращение, «где бы и в какой бы форме оно ни встречалось», связано не только с присутствием двоякопреломляющих одноосных частиц, как постулировал Энгельман (1873), но и с химическим взаимодействием белкового вещества этих частиц с богатыми энергией полифосфорными соединениями.

Эта же мысль о возможности единства контрактивных механизмов мышечного волокна и различных видов подвижных клеток была высказана В. А. Энгельгардтом (1946).

Экспериментальная разработка этого вопроса началась почти одновременно в 1943—1945 гг. в нескольких лабораториях. В качестве объекта была избрана семенная клетка, наделенная способностью к крайне энергичному движению, многие стороны обмена которой к этому времени были уже хорошо изучены (см. литературу И. И. Иванов, 1943, 1950 б; Ларди, Хансен и Филлипс — Lardy, Hansen, Phillips, 1945).

Выбор семенной клетки в качестве объекта для изучения вопроса о путях превращения энергии биохимических процессов в механическую работу был сделан несомненно удачно. Недавно Карлсон (1959) показал, что практически вся энергия, освобождающаяся при обменных процессах в спермиях E. esculentes, используется для поддержания движения. Сперматозоиды, в частности спермии морских ежей, таким образом, являются идеальным объектом для изучения механизма превращения химической энергии в работу клетки.

Большой интерес представлял вопрос о механизме использования сперматозоидами для выполнения их двигательной функции энергии дыхания и гликолиза. Как известно, согласно существующим представлениям, при двухфазной мышечной работе энергия химических экзотермических превращений используется не прямо, но путем ресинтеза аденозинтрифосфата, расщепление которого уже непосредственно связано с мышечной деятельностью.

В пользу представления о непрямом использовании энергии дыхания и гликолиза семенной клеткой для целей движения говорит и тот факт, отмеченный И. И. Ивановым еще в 1936 г., что при одновременной блокировке дыхания и гликолиза, например, при отравлении спермиев монобромацетатом и цианидом, движение семенных клеток прекращается хотя и быстро, но отнюдь не тотчас же. По-видимому, в этих условиях сперматоз-

зоиды, подобно мышцам, обладают способностью сохранять в течение некоторого времени движение за счет энергии дефосфорилирования системы АТФ.

Как бы то ни было, энергетические ресурсы сперматозоида, представленные фосфорными органическими соединениями, должны быть весьма ограничены. Это вытекает из того обстоятельства, что при одновременной блокировке дыхания и гликолиза возможность сохранения подвижности сперматозоидов обеспечивается лишь в течение 1—3 минут при 37° и 5—10 минут при 18°.

Определение содержания аденозинтрифосфорной кислоты в спермиях млекопитающих было предпринято И. И. Ивановым и К. И. Каныгиной (1945), С. А. Бурнашевой (1947), В. А. Энгельгардтом (1946) и Ларди, Хансеном и Филлипсом (1945).

По данным И. И. Иванова и К. И. Каныгиной, содержание аденозинтрифосфорной кислоты в сперматозоидах быка, полученных из придатка семенников, колеблется в пределах 12—30 мг фосфора аденозинтрифосфорной кислоты в 100 г содержимого Cauda epididymis (8—20 мг% легко гидролизуемого фосфора). Содержание аденозинтрифосфорной кислоты резко уменьшается при анаэробиозе одновременно с прекращением поступательного движения спермиев. После создания аэробных условий или при добавлении глюкозы содержание аденозинтрифосфорной кислоты в семенных клетках возвращается к исходной величине; одновременно возобновляется и подвижность спермиев.

Аналогичные данные были получены Ларди, Хансеном, Филлипсом (1945), согласно определениям которых в хорошо аэрированной сперме на 1 г сухого веса семенных клеток приходится около 1 мг легко гидролизуемого фосфора.

По И. И. Иванову и К. И. Каныгиной распад аденозинтрифосфорной кислоты и потеря подвижности сперматозоидами в анаэробных условиях происходят особенно быстро в присутствии ингибитора гликолиза-монобромацетата (табл. 12 и 13).

Таким образом, в этой серии опытов предположение о сходстве механизмов передачи энергии дыхания и гликолиза контрактильным элементам как мышечной, так и семенной клетки путем ресинтеза аденозинтрифосфата нашло себе полное подтверждение.

Несколько позднее Манн (Mann, 1945 а, б) выделил аденозинтрифосфорную кислоту в виде бариевой соли из спермы барана и установил наличие в сперматозоидах млекопитающих других дериватов аденозина. Отношение N к P в выделенной бариевой соли аденозинтрифосфорной кислоты соответствовало теоретическому отношению 1 : 2. По Манну, в сперме барана содержание аденозинтрифосфорной кислоты, выраженное в миллиграммах аминоазота или легко гидролизуемого фосфора, колеблется в следующих пределах: 0,6—1,5 мг аминоазота и 2,6—6,6 мг легко гидролизуемого фосфора в 100 мл семени.

Таблица 12

Содержание аденозинтрифосфорной кислоты в спермиях барана (из Cauda epididymis) **в аэробных и анаэробных условиях** (по И. И. Иванову и К. И. Каныгиной, 1945), **в мг %**

Аэробные условия		Анаэробные условия			
		в отсутствие глюкозы		в присутствии глюкозы	
содержание легко-гидролизуемого фосфора АТФ	подвижность	содержание легко гидролизуемого фосфора АТФ	подвижность	содержание легкого гидролизуемого фосфора АТФ	подвижность
8,2	хорошая	0,0	почти неподвижны	8,3	хорошая
19,6	очень хорошая	1,9	то же	12,2	»
15,8	хорошая	1,7	» »	12,7	»
8,0	слабая	0,0	неподвижны	4,0	слабая не определялась
13,0	хорошая	3,5	то же	не определялась	
14,8	очень хорошая	5,2	почти неподвижны		

Таблица 13

Содержание аденозинтрифосфорной кислоты в спермиях барана (из Cauda epididyms,) **отравленных монобромацетатом** (0,0005М) **в аэробных и анаэробных условиях** (по И. И. Иванову, и К. И. Каныгиной, 1945), **в мг %**

Аэробные условия		Анаэробные условия	
Содержание легко гидролизуемого фосфора АТФ	Подвижность	Содержание легко гидролизуемого фосфора АТФ	Подвижность
16,5	Очень хорошая	3	Слабо колебательная
7,0	Хорошая	0	То же
17,2	Очень хорошая	3,4	Неподвижны
18,3	Хорошая	2,0	Слабо колебательная
11,4	То же	9,3	То же

В более жидкой сперме быка концентрация аденозинтрифосфорной кислоты выражалась соответственно 0,4 мг аминоазота и 1,7 мг легко гидролизуемого фосфора.

Нетрудно видеть, что эти цифры вполне соответствуют данным И. И. Иванова и К. С. Каныгиной (1945), полученным при определении аденозинтрифосфорной кислоты в содержимом Cauda epididymis семенников быка. В содержимом придатков семенников хряка концентрация аденозинтрифосфорной кислоты, по данным Л. Д. Фоменко (1947), колеблется в пределах

5—9 мг% легко гидролизуемого фосфора. С. А. Бурнашевой (1947) была показана возможность иммобилизации сперматозоидов млекопитающих магниевыми солями, инактивирующими аденозинтрифосфатазную активность клеток, без снижения в них уровня аденозинтрифосфорной кислоты. Помимо того, С. А. Бурнашева выделила из сперматозоидов белковую фракцию, обладающую аденозинтрифосфатазной активностью. Эта фракция была названа В. А. Энгельгардтом спермозином.

Позднее В. А. Энгельгардтом и С. А. Бурнашевой (1957) было показано, что АТФ-азная активность спермиев локализована (на 80%) в хвостовой части спермия, т. е. непосредственно в сократительном аппарате подвижной клетки.

Общее содержание других дериватов аденозина в сперме барана, по данным Манна, составляет около 3,9 мг аминазота в 100 мл семенной жидкости, при этом 3,45 мг аминазота содержится в форменных элементах спермы — сперматозоидах.

И. И. Иванов, Б. С. Касавина и Л. Д. Фоменко (1946, 1947) выделили аденозинтрифосфорную кислоту в форме бариевой соли из сперматозоидов хряка и изучили ее действие на мышечный актомиозин. Как оказалось, по способности изменять свойства актомиозина аденозинтрифосфат семенных клеток не отличается от мышечной аденозинтрифосфорной кислоты.

Из всего вышеизложенного с полной очевидностью вытекало, что система АТФ-аза — АТФ должна играть в движении хвоста сперматозоида, а также и в других видах клеточного движения, такую же роль, какую ей приписывают в механизме сокращения мышцы.

Экспериментально это положение было строго доказано несколько позднее в работах Гофман-Берлинга на так называемых клеточных моделях.

Гофман-Берлинг и Вебер (Hoffmann-Berling a. Weber, 1953) и Гофман-Берлинг (1954 а, б) предложили метод, позволяющий изучать сокращение клеточной протоплазмы при взаимодействии ее с АТФ, используя с этой целью экстрагированные 30—50%-ным глицерином клетки культуры тканей. Как известно, живые клетки имеют во время интерфазы вытянутую форму. Если их экстрагировать глицерином в этом состоянии, то при добавлении АТФ они сокращаются, принимая сферическую форму. В случае, когда клетки экстрагируются после завершения анафазы, АТФ вызывает в них деление, по-видимому, обусловленное экваториальным сокращением протоплазмы. В клетках, экстрагированных после завершения ранней анафазы, добавление АТФ вызывает расхождение хромозом, иногда на расстояние, которое наблюдается при делении живых клеток.

В более поздней работе этого же автора (Гофман-Берлинг, 1956) сообщается, что сократительный белок может быть экстрагирован из саркоматозных клеток и затем подвергнут специальной очистке. Растворимость этого белка в солевых средах

зависит от ионной силы раствора и присутствия в нем АТФ. Если АТФ добавляется к гелю контрактильного белка при ионной силе около 0,1, гель сокращается или подвергается, подобно актомиозину, суперпреципитации.

Белок, выделенный Гофман-Берлинг, обладает заметной, хотя и менее выраженной, чем у актомиозина, АТФ-азной активностью. Последняя меняется в зависимости от концентрации ионов Mg^{++}, ионной силы раствора и подавляется теми же ядами, которые угнетают способность актомиозина расщеплять АТФ; вязкость раствора контрактильного белка, выделенного автором, обратимо снижается при добавлении АТФ.

Позднее Б. Ф. Поглазов (1957) в лаборатории В. А. Энгельгардта обнаружил наличие АТФ-азной активности также в ряде других, в том числе растительных, объектов, способных к активному сокращению (листья Mimosa pudica, Desmodium gyrans и некоторых акаций), однако АТФ-аза из листьев мимозы оказалась цитоплазматически растворимым ферментом.

Особенно интересно, что в 1955 г. Гофман-Берлинг удалось показать возможность воспроизведения на клеточных моделях (экстрагированных водно-глицериновым раствором сперматозоидах и трипанозомах) полного рабочего цикла сокращения — расслабления при простом внесении в раствор, содержащий KCl и $MgCl_2$, АТФ. Сперматозоиды в этих условиях производили быстрые движения хвостами, а трипанозомы — волнообразные движения ундулирующими мембранами.

Чрезвычайно демонстративной и удобной клеточной моделью оказался также экстрагированный 45%-ным водным глицерином мерцательный эпителий слизистой оболочки нёба лягушек, а также трахей крысы и кролика. Эти модели были предложены в 1956 г. В. Я. Александровым и Н. И. Арронет.

Едва ли можно переоценить значение клеточных моделей при изучении механохимии сократительных процессов. В этих моделях раскрывается единый принцип, используемый природой для решения самых различных задач, связанных с необходимостью выполнения тех или иных видов механической работы; в этих исследованиях мы непосредственно подходим и к расшифровке механизма двухфазной деятельности различных органелл движения и, в том числе, попеременного сокращения и расслабления мышц высокоорганизованных животных.

Касаясь истории вопроса о контрактильных системах, не идентичных актомиозину, необходимо напомнить, что И. Б. Збарский и К. А. Перевощикова еще в 1948 г. (см. И. Б. Збарский, 1950) показали, что АТФ может вызывать in vitro синерезис гистона, извлеченного из ядер клеток по методу Косселя.

Данные Гофман-Берлинга о возможности получения подвижных глицериновых «клеточных моделей» были подтверждены рядом авторов. Никоим образом не претендуя на приоритет в этом вопросе, мы хотели бы лишь упомянуть о том, что в лаборатории И. И. Иванова еще в 1951 г. было сделано

аналогичное наблюдение: как оказалось, подвижность сперматозоидов обездвиженных и убитых многократным промыванием в дистиллированной воде, при перенесении их в раствор Сент-Дьердьи (0,05 М KCl и 0,001 М $MgCl_2$) после добавления АТФ в некоторых опытах неожиданно возобновлялась. По независящим обстоятельствам это наблюдение не было, однако, проверено, повторено и своевременно опубликовано.

Здесь можно также отметить, что наблюдать на глицериновых «моделях» спермиев эффект, описанный Гофман-Берлингом, при внесении в солевую среду АТФ легко удается лишь на спермиях определенных видов животных (птицы, холоднокровные). Получать глицериновые «модели» сперматозоидов млекопитающих по каким-то неясным еще причинам — значительно труднее.

Вопрос о механизме двухфазной деятельности органелл клеточного движения в присутствии АТФ в одном и том же солевом растворе представляет, очевидно, исключительный интерес. Сколько-нибудь ясного ответа на этот вопрос в работах Гофман-Берлинга и Вебера найти нельзя.

Попытку подойти к решению этого вопроса предприняли И. И. Иванов и Г. П. Пинаев (1957), высказавшие мнение, что расслабление органеллы движения является чисто пассивным процессом, происходящим за счет упругих сил деформации, антагонистически действующего упругого разгибателя (твердой скелетной нити) жгутика или реснички.

Как уже указывалось на стр. 66 быстрое попеременное сгибание и разгибание органеллы движения клеточной глицериновой модели в одном и том же солевом растворе в присутствии АТФ, очевидно, возможно лишь в том случае, если сила сокращения органеллы движения резко и внезапно (скачкообразно) снижается в момент ее полного сокращения и также автоматически быстро и внезапно восстанавливается в момент полного разгибания (расслабления) органеллы. В противном случае в определенный момент времени неизбежно должно установиться состояние равновесия между силой, стремящейся вызвать сокращение органеллы и эластической тягой деформированного разгибателя. Периодическая двухфазная деятельность органеллы движения (попеременное ее сгибание и разгибание) при этом окажется, очевидно, невозможной.

Вероятный механизм автоматического изменения сократительной силы органеллы движения на разных фазах сократительного процесса был уже рассмотрен в гл. IV (см. стр. 66). Здесь можно лишь напомнить, что представление, высказанное первоначально Хансеном и Хаксли и развитое затем Вебером о механизме сокращения мышечного волокна, как о процессе, сущность которого сводится к своеобразному взаимодействию (скольжению) актиновых нитей вдоль миозиновых нитей, позволяет понять и возможность скачкообразного уменьшения силы сокращения к концу сократительного акта.

Для того чтобы иметь возможность перенести указанные представления на случай сокращения клеточных органелл движения, необходимо лишь доказать, что контрактильные белки

клеточных органелл движения также представляют собой систему, состоящую из двух белковых компонентов: миозиноподобного белка и актиноподобного белка. Это предположение о наличии во всех контрактильных системах двух белковых компонентов можно считать вполне соответствующим целому ряду известных в настоящее время экспериментальных данных.

Необходимо подчеркнуть, что некоторые типы клеточных органелл могут производить одиночное активное движение разгибательного характера без расщепления АТФ за счет упругих сил деформации антагонистически действующего разгибателя. Именно таков, например, механизм удлинения (распрямления) веретен (Spindel или Stemmkörper) делящихся клеток. Эти силы вызывают расхождение хромозом в разные стороны к полюсам клетки во второй стадии анафазы. Такое расхождение хромосом можно наблюдать на соответствующих клеточных моделях при добавлении АТФ. Однако оно возникает в условиях, соответствующих расслаблению, а не сокращению. АТФ в этом случае играет лишь роль пластификатора (размягчителя) и может быть заменена неорганическим пирофосфатом, т. е. соединением, которое не расщепляется миозином и не индуцирует контрактильных реакций. Этот вид клеточного движения не угнетается и ингибитором АТФ-азы — мерсалилом.

Высказанное заключение вполне совпадает со старым взглядом, согласно которому удлинение Stemmkörper связано скорее с их активным распрямлением, чем с сокращением контрактильных элементов клетки в радиальном направлении.

Итак, несомненно, что растяжение в длину делящейся клетки протекает в условиях, аналогичных расслаблению мышцы или клеточной органеллы движения, и требует наличия фибриллярных структур, находящихся в «сокращенном» или «сжатом» состоянии.

В настоящее время накопился довольно большой фактический материал, позволяющий считать, что сокращение клеточных моделей если и не всегда, то в подавляющем большинстве случаев, протекает в условиях, аналогичных сокращению мышечных волокон.

Установлено, что расщепление АТФ необходимо для осуществления по крайней мере следующих видов клеточного движения: сокращения всех видов вытянутых клеток, находящихся в интерфазе до сферического состояния; сокращения (втягивания) псевдоподий (Гофман-Берлинг, 1956); экваториального сокращения делящихся клеток в стадии телефазы; вероятно также сокращения веретен в ранней стадии анафазы (Гофман-Берлинг, 1955); сокращения жгутиков и ресничек подвижных клеток.

Движение «клеточных моделей», по Веберу, можно наблюдать в условиях, близких к тем, которые необходимы для сокращения мацерированных мышечных волокон: концентрация АТФ, например, должна быть около $2 \cdot 10^{-3}$ М; pH около 7,0; ионная

сила около 0,14; концентрации АТФ, супероптимальные для мышечных волокон, оказывают угнетающее действие и на сокращение клеточных органелл движения, ингибиторы миозиновой АТФ-азы — сурамин и мерсалил — угнетают в одинаковых концентрациях оба вида моделей; неорганические полифосфаты оказываются неэффективными и в том и в другом случае и, наконец, сокращение как мышечных моделей, содержащих фактор Марша — Бендалла (см. стр. 69), так и клеточных моделей, экстрагированных глицерином в течение короткого времени, может быть усилено добавлением Са. К этому последнему обстоятельству мы еще вернемся несколько позднее.

Стройность нарисованной картины была, однако, недавно нарушена новыми публикациями Гофман-Берлинг (1958), который считает, что ему удалось открыть существование форм клеточного движения, в принципе отличающихся по своему механизму от сокращения мышечного волокна и перечисленных ранее клеточных моделей.

Надо все же сразу подчеркнуть, что такое заключение Гофман-Берлинга, по-видимому, построено на весьма шаткой основе.

Посмотрим, к чему сводятся факты, на которых базируется Гофман-Берлинг, отрицая возможность сведения всех видов клеточного движения к единому принципу?

Как известно, в ножке Vorticella (сувойки) имеются особые контрактильные нити или мионемы, которые обычно рассматриваются как мышечные клетки. Они действительно напоминают миофибриллы и мгновенно сокращаются при раздражении Vorticella.

Сократившаяся ножка сувойки возвращается к исходной длине под действием внешней силы, в данном случае напряжения эластической оболочки ножки Vorticella. Можно было бы, таким образом, думать, что сокращение ножки связано с расщеплением, т. е. использованием энергии АТФ, поскольку возвращение к исходной длине несомненно является чисто пассивным процессом. Работу, которая производится при распрямлении ножки Vorticella можно сравнивать с работой, выполняемой при распрямлении сжатой пружины.

Однако Гофман-Берлинг пришел в результате своих опытов с глицериновыми моделями Vorticella к совершенно другому выводу. Обратимся, прежде всего, к установленным им фактам. По данным этого автора: 1) добавление АТФ и Mg не вызывает сокращения глицериновых моделей ножек Vorticella; 2) однако модель сокращается, если в раствор вносятся следы Са; 3) при удалении Са с помощью ЭДТА (этилендиаминтетраацетата), связывающего двухвалентные ионы Са, модель снова расслабляется и ножка распрямляется; 4) по Гофман-Берлингу, Са можно удалить из мионемы и более физиологическим путем, не применяя ЭДТА. Для этого вносят АТФ. При этом наступает расслабление, а затем через некоторое время возникает

ритмическое сокращение и расслабление, т. е. ритмическая двухфазная деятельность. Необходимым условием этой ритмической деятельности является одновременное присутствие в растворе Са и АТФ. Энергия, необходимая для осуществления такого ритмического движения, получается, очевидно, за счет расщепления АТФ, так как других источников энергии в данном случае нет; 5) Мерсалил действует следующим образом: если мерсалил в концентрации 10^{-4} М прибавляется к модели Vorticella, сократившейся в результате добавления Са и затем в среду вносится АТФ, то никакого расслабления и последующего ритмического сокращения наблюдать не удается. Если же мерсалил добавляется к модели, которая сначала сократилась после прибавления Са, а затем под влиянием АТФ перешла в расслабленное состояние, но не начала еще ритмической деятельности, то в этом случае расслабление, вызванное АТФ, сохраняется. Последующая же ритмическая деятельность оказывается невозможной.

Эти наблюдения и послужили Гофман-Берлингу (см. также Вебер, 1958) основанием для утверждения, что в данном случае мы имеем дело с принципиально новым типом клеточного сокращения (клетка не сокращается при добавлении АТФ и Mg, но сокращение может быть вызвано внесением солей Са).

Вебер пытается даже построить гипотезу, объясняющую этот новый механизм клеточного движения. Однако, эта гипотеза. по-видимому, не может быть признана достаточно обоснованной и не выдерживает критики с термодинамических позиций.

Вебер исходит из предположения, что сокращение ножки сувойки, в противоположность сокращению мышечного волокна и ряда других клеточных органелл движения, не связано с расщеплением АТФ. Сокращение, по его мнению, вызывается ионами Са. Весь рабочий цикл ножки Vorticella Вебер (1958) схематически выражает следующим образом.

1) Вначале Са присоединяется к контрактильному белку, что и вызывает мгновенное сокращение мионемы:

$$\text{Мионема} + Ca^{++} \rightarrow \text{сокращенная мионема} - Ca.$$

2) Далее комплекс сокращенная мионема — Са реагирует с АТФ, причем мионема, освобожденная от Са, переходит в расслабленное состояние, а Са связывается с АТФ:

$$\text{окращенная мионема} - Ca + \text{АТФ} \rightarrow \text{расслабленная мионема} + Ca - \text{АТФ}$$

На этой стадии процесса АТФ расщеплению не подвергается.

3) Кальциевая соль АТФ начинает затем расщепляться миозиноподобным белком мионемы, находящейся в расслабленном состоянии с образованием АДФ и свободных ионов Са.

$$Ca - \text{АТФ} + H_2O \rightarrow \text{АДФ} + \text{фосфат} + Ca^{++} + \text{энергия}.$$

Затем весь рабочий цикл начинается снова.

Нетрудно видеть, что в этой схеме энергия расщепления АТФ не используется ни для сокращения, ни для расслабления мионемы (энергия бесполезно освобождается в форме теплоты в фазе третьей, когда из кальциевой соли АТФ получается АДФ, фосфат и ионы Са). Однако такой рабочий механизм, по соображениям термодинамического характера, очевидно, не может существовать в природе. Энергия расщепления АТФ должна обязательно использоваться либо в фазе сокращения, либо в фазе расслабления мионемы без промежуточного образования теплоты.

Странным образом это элементарное соображение совершенно не учитывается в схеме Вебера.

Здесь можно напомнить, что в свое время и Сент-Дьердьи постулировал теорию мышечной работы, находившуюся в резком противоречии с основными термодинамическими требованиями и оказавшуюся поэтому совершенно несостоятельной.

По нашему мнению, изложенные выше экспериментальные данные Гофман-Берлинга не дают еще права считать, что сокращение ножки Vorticella действительно не связано с взаимодействием контрактильного белка мионемы с АТФ и не сопровождается расщеплением высокоэргических фосфатных связей.

Можно, например, думать, что в глицериновой модели Vorticella сохраняется еще очень небольшое количество связанной с белком АТФ, достаточное лишь для одиночного сокращения. То обстоятельство, что при применении глицериновых клеточных моделей некоторое количество АТФ может действительно оставаться связанным с белком подтверждается наблюдениями И. И. Иванова, В. С. Гайцхоки и В. В. Корхова (1959) на глицериновых моделях спермиев. Такие модели могут иногда обнаруживать подвижность при перенесении их из глицерина в солевой раствор, содержащий Mg, даже и в отсутствие АТФ. Это движение очень быстро затухает, но снова возобновляется при внесении в солевой раствор АТФ извне.

Аналогичное наблюдение было сделано и на модели мерцательного эпителия нёба лягушки.

Но если в ножке «глицериновой модели» сувойки (Vorticella) действительно сохраняется некоторое количество АТФ, тогда становится совершенно понятной возможность сокращения мионемы при внесении в раствор минимального количества Са. Добавление Са, очевидно, резко повышает АТФ-азную активность контрактильного белка мионемы вследствие, например, инактивации фактора Марша — Бендалла — ингибитора АТФ-азной активности контрактильного белка. Наличие известного количества этого фактора в глицериновых моделях никоим образом отрицать нельзя.

Резкое возрастание АТФ-азной активности контрактильного белка неизбежно приводит к быстрому расщеплению всего количества сохранившейся в мионеме АТФ, причем за счет

освобождающейся энергии происходит сокращение ножки Vorticella.

Последующее расслабление и ритмическая деятельность оказываются, однако, в этих условиях невозможными вследствие исчерпания запаса АТФ.

Ритмическая деятельность может начаться и действительно начинается лишь после внесения в систему достаточного количества АТФ извне (в присутствии Са).

Таким образом, ионы Са вероятно необходимы в данном случае лишь потому, что в присутствии Са создаются оптимальные условия для осуществления нормального рабочего цикла ножки сувойки.

Будущие исследования внесут большую ясность в эту интересную проблему.

ЧАСТЬ ВТОРАЯ

ПАТОБИОХИМИЯ МЫШЦ

ГЛАВА VIII

ДЕНЕРВАЦИЯ

Данные по патобиохимии мышц в настоящее время еще очень скудны, нередко противоречивы и не дают возможности представить полную картину многообразных биохимических сдвигов при различных формах мышечной патологии.

Однако даже и те сведения, которыми мы располагаем сейчас, могут в значительной степени приблизить нас к пониманию сущности нарушений мышечной деятельности и помочь клиницистам в поисках патогенетической терапии этих страданий.

Хорошо известно, что длительное нарушение двигательной функции мускулатуры сопровождается атрофией мышечных элементов. Среди различных факторов, вызывающих атрофические процессы в мышцах, денервация, безусловно, занимает одно из первых мест.

ИЗМЕНЕНИЯ МЫШЦ ПРИ ДЕНЕРВАЦИИ

В результате денервации возникают так называемые вторичные прогрессивные мышечные дистрофии, зависящие от выпадения функции двигательных клеток передних рогов спинного мозга и их аксонов. Поражение периферической и центральной нервной системы при ряде общих и в том числе инфекционных заболеваний также является нередкой причиной возникновения мышечных атрофий. Неврогенный характер имеет и большинство случаев мышечной атрофии травматического происхождения. Изучение характера и динамики морфологических и функциональных изменений в мышце после ее денервации привлекает к себе в настоящее время внимание широкого круга исследователей. Большой фактический материал как в условиях клиники, так и в эксперименте накоплен также и при изучении биохимических сдвигов в денервированных мышцах.

Результаты важнейших исследований денервированных мышц изложены в ряде недавно опубликованных обзорных статей (Д. Л. Фердман, 1954, 1957; П. М. Зубенко, 1954; Фишер — Fischer, 1955), монографий (Д. Л. Фердман, 1953; И. Д. Хлопина, 1957; А. Н. Студитский, 1959; и др.) и сборников работ.

Следует отметить, что в основной массе экспериментальных исследований денервация мышц достигалась путем перерезки соответствующего нервного ствола. Наиболее излюбленным приемом являлась перерезка седалищного нерва. Наряду с этим имеется ряд работ, посвященных специальному сравнительному изучению обменных нарушений в мышцах при их деэфферентации, деафферентации и десимпатизации.

Белки мышц и азотистый обмен

Заметные изменения после денервации происходят в составе и свойствах мышечных белков. С развитием мышечной атрофии уменьшается общее количество белков и изменяется их фракционный состав. Происходит замещение мышечной ткани соединительной, в связи с чем резко увеличивается количество коллагена и уменьшается содержание миозина (Фишер, Рамсей — Fischer, Ramsey, 1944, 1946; Фишер, 1948; Д. Л. Фердман и А. Я. Местечкина, 1951; Крепакс, 1949, 1953; А. И. Комкова, 1958; и др.). Через 22—30 дней после денервации содержание коллагена в мышце увеличивается на 60%, а количество миозина снижается на 48% (Фишер, Рамсей, 1944, 1946).

По данным Д. Л. Фердмана и А. Я. Местечкиной через 21—40 дней после перерезки седалищного нерва содержание миозина падает на 74%. Уменьшение содержания калия в денервированных мышцах по мнению ряда авторов также свидетельствует об уменьшении количества миозина (Хайнс и Ноултон — Hines a. Knowlton, 1933; Хайнс и Вакхольдер — Hines a. Wachholder, 1944; А. Н. Лепорский, 1946; Фишер, 1949; Хамол, Грисвольд, Мак-Интайр — Humoller, Griswold a. Mc Intyre, 1950; и др.).

Изменения фракционного состава мышечных белков особенно демонстративно выявляются при сравнении электрофореграмм белков нормальных и денервированных мышц.

При электрофорезе белков, экстрагированных из мышц солевыми растворами с низкой ионной силой 0,1—0,15, как известно, выявляются три группы пиков. Первая из них наименее подвижная (пики *m*, *n*, *l*) содержит ряд ферментов, причем фракции *m* и *l* обнаруживают альдолазную, фосфоглюкомутазную и триозофосфатдегидразную активность.

Вторая группа (пики k_1, k_2) связана с фосфорилазами и некоторыми другими ферментами и третья группа представлена миоальбумином — пик *h* — наиболее подвижная фракция и непостоянными пиками — *j* и *i*.

В экстрактах мышечных белков солевыми растворами с высокой ионной силой при электрофорезе также можно обнаружить три группы пиков, не идентичных описанным ранее. К первой группе относят миогеновый пик, обозначаемый *M*, ко второй — сумму белков так называемого актомиозинового комплекса, т. е. миозин, актин и актомиозин, третий пик обусловлен миоальбумином. При длительной экстракции белков вторая группа часто представлена только одним актомиозиновым комплексом — α. К этой же группе относят и обнаруженный Дюбюиссоном (1950) в экстракте, полученном из сокращенных мышц, дополнительный электрофоретический пик, соответствующий белку — контрактину (обозначается как γ-миозин, а также буквой *C*). Последняя, наиболее подвижная группа белков представлена миоальбуминовой фракцией *h*. Соотношение белков, извлекаемых из мышечного гомогената солевыми растворами с низкой ионной силой, при денервации мышц значительно меняется (Крепакс, 1949). Уменьшается относительное содержание первых двух групп белков и сильно возрастает количество миоальбумина (рис. 15, *а*). Изменение процентного содержания отдельных групп саркоплазматических белков, вычисленное по площадям соответствующих электрофоретических пиков дано по данным Крепакс в табл. 14.

Таблица 14

Изменение состава саркоплазматических белков после денервации

Дни после денервации	Процентное содержание белков группы		
	первой	второй	третьей
Нормальная мышца . .	78	19	8
45 дней после денервации	57	16	27
84 дня после денервации	50	14	31

Электрофоретическая картина мышечных белков, извлекаемых солевыми растворами с высокой ионной силой при денервации также заметно отличается от нормальной. По мере развития мышечной атрофии снижается содержание белков актомиозинового комплекса и миогеновой фракции; миоальбуминовый пик возрастает (рис. 15, б).

Изменение процентного содержания отдельных групп мышечных белков, извлекаемых солевыми растворами с ионной силой 0,35, по данным Крепакс, представлено в табл. 15.

Дальнейшими исследованиями этого же автора (Крепакс, 1953) было обнаружено, что при денервации в составе белков,

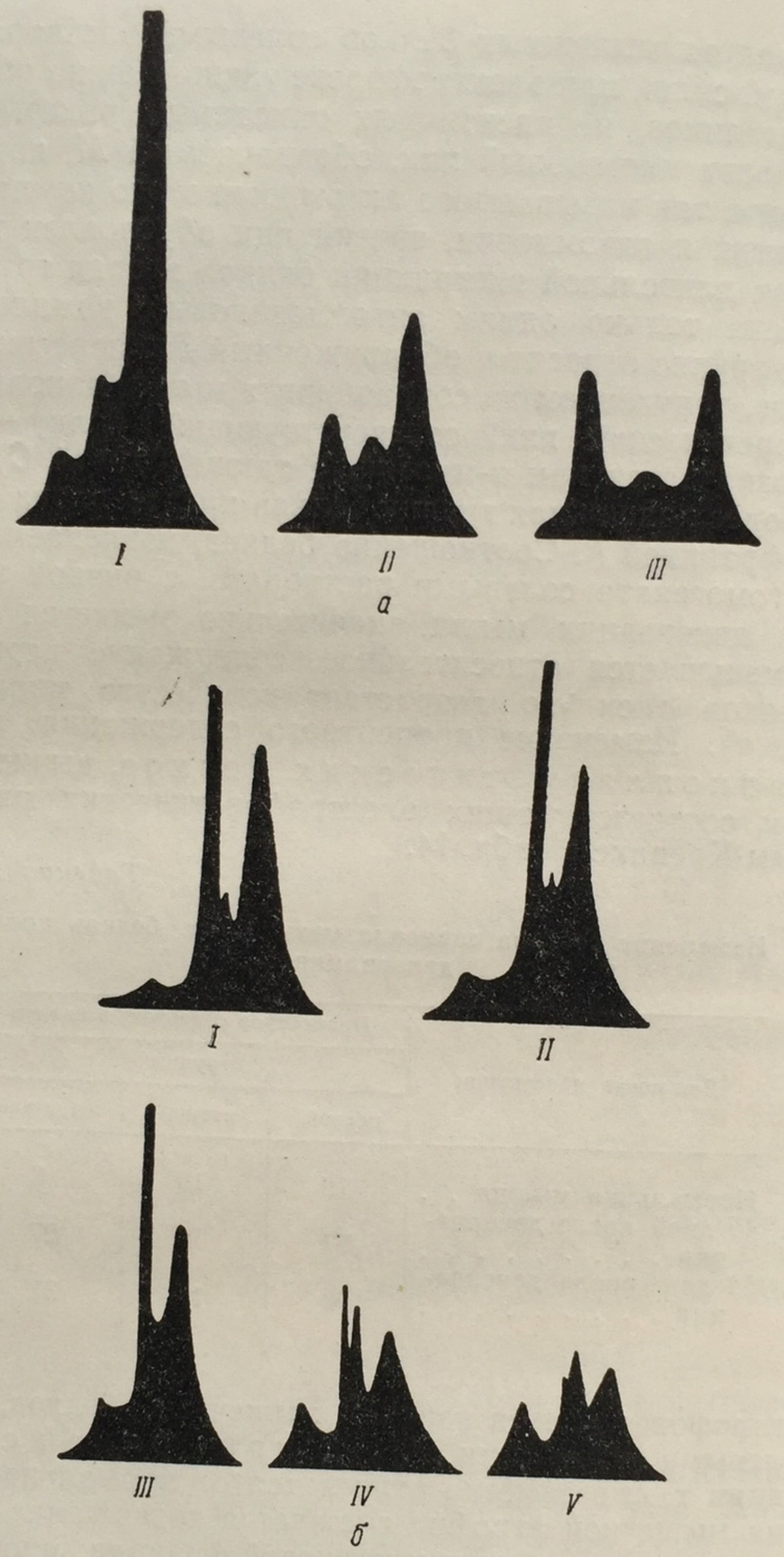


Рис. 15. Влияние денервации на фракционный состав белков скелетной мускулатуры (Крепакс, 1953).

а — электрофореграммы мышечных белков, извлекаемых солевыми растворами с низкой ионной силой. *I* — нормальная мышца; *II* — через 45 дней после денервации; *III* — через 84 дня после денервации. *б* — электрофореграммы мышечных белков, извлекаемых солевыми растворами с высокой ионной силой. *I* — нормальная мышца; *II* — через 16 дней после денервации; *III* — через 34 дня после денервации: *IV* — через 45 дней после денервации; *V* — через 84 дня после денервации.

извлекаемых из мышц солевыми растворами с еще более высокой ионной силой ($\mu=0,5$), при электрофорезе обнаруживается новая, количественно весьма значительная фракция, по своей подвижности аналогичная ν-миозину (контрактину Дюбюиссона).

Таблица 15

Изменение состава мышечных белков, извлекаемых солевыми растворами с высокой ионной силой после денервации

Дни после денервации	Процентное содержание белков		
	группы		
	первой	второй	третьей
Нормальные мышцы . .	58	35	7
16 дней после денервации	46	38	12
34 дня после денервации	50	39	15
45 дней » »	50	32	18
84 дня » »	45	30	25

Четкое представление о характере изменений фракционного состава белков при денервации мышцы дает табл. 16, заимствованная из работы Хеландера (1957).

Таблица 16

Фракционный состав нормальных и денервированных мышц одних и тех же кроликов

(средние величины из 17 определений)[1]

Название фракции	Содержание азота в мг на 1 г мышечной ткани		В процентах к содержанию азота в нормальных мышцах	Содержание азота фракций в процентах от общего азота	
	нормальные мышцы	денервированные мышцы		нормальные мышцы	денервированные мышцы
Общий азот	32,3	26,0	80	—	—
Миофибриллярные белки	18,3	13,1	71	56,4	49,8
Саркоплазматические белки	8,3	6,3	78	25,4	24,3
Небелковый азот . . .	3,2	2,8	86	9,9	10,6
Белки стромы	2,8	4,0	149	8,5	15,6

[1] Животные убиты через 20 дней после денервации мышцы.

Большой интерес представляют данные, говорящие о том, что наряду с уменьшением общего содержания миофибриллярных белков в них значительно изменяется и соотношение фракций *AM* и *T* (см. гл. V). И. И. Иванов и Н. И. Мирович (1960) наблюдали при денервации мышц, вызванной перерезкой спинного мозга, значительное изменение этого отношения в сторону

увеличения содержания белков, растворимых при низкой ионной силе.

При спастическом параличе (болезнь Литтля) отношение этих двух групп белков по нашим данным может достигать величины 1,5 : 1. Указанные изменения миофибриллярных белков несомненно имеют тесную связь с нарушением сократительной функции денервированных мышц.

Фракционный состав белков ткани денервированных мышц на ранней стадии атрофического процесса имеет много общего с эмбриональной мышечной тканью. По сравнению с нормальной мускулатурой в мышечной ткани эмбрионов и в денервированных мышцах взрослого животного значительно выше содержание белков стромы и миоальбумина и резко снижено количество миофибриллярных белков.

Имеются и другие черты сходства эмбриональной и денервированной мускулатуры, например, интенсивная сократительная реакция в ответ на воздействие небольших концентраций ацетилхолина, общий характер некоторых электрофизиологических характеристик и т. д. По представлению Л. А. Орбели (1938) «всякая мышца взрослого млекопитающего может быть возвращена до известной степени к ранним формам мышечной ткани путем перерезки двигательных нервов». Несомненно, ряд особенностей обмена и изменения фракционного состава белков придают на определенном этапе денервированной мышце известное сходство с эмбриональными мышцами. Однако значительная часть обменных сдвигов и изменений химического состава мышцы, особенно в поздние периоды после денервации, носит явно патологический и необратимый характер и является следствием нарушения нормального функционального состояния и недостаточного питания. С течением времени удельный вес этих необратимых патобиохимических и морфологических нарушений возрастает и, как известно, процесс заканчивается атрофией и дегенерацией денервированных мышц.

Сведения о качественных изменениях мышечных белков после денервации немногочисленны и противоречивы. По данным Фишера и сотр. (Фишер, Хуф, Рамсей, Риланд — Fischer, Huf, Ramsey, Ryland, 1947) АТФ-азная активность трижды переосажденного миозина, выделенного из мышцы через продолжительные сроки после денервации, ниже чем у миозина нормальной мышцы. Отмечено также более слабое укорочение актомиозиновых нитей при добавлении раствора АТФ. Фишер и Рамсей (1944) наблюдали различие в характере осадка миозина, выделенного из нормальных и денервированных мышц. В последнем случае осадок был более обильным, но содержание в нем азота было меньше, чем в таком же объеме осадка миозина полученного при тех же условиях из нормальных мышц. Исследование двойного лучепреломления в потоке раствора миозина, выделенного из мышц через 14—30 дней после их денервации, показало

уменьшение средней величины частиц и увеличение собственной анизотропии миозина (Шапира, Дрейфус и Жоли — Schapiraa, Dreyfus, Joly, 1952). Необходимо, однако, подчеркнуть, что обнаруженные изменения были весьма незначительными и, как отмечают сами авторы, могли возникнуть в связи с перераспределением ионов в мышце при ее денервации, а не в результате качественных изменений миозина.

По данным А. И. Комковой (1958), такие свойства миозина, как АТФ-азная активность, способность связывать красители, а также содержание сульфгидрильных групп при денервации мышц практически не изменяются. Варга с сотр. (Варга, Ковер, Ковач, Хетеньи — Varga, Köver, Kövacs, Hetenyi, 1957) обнаружили, что холинэстеразная активность миозина при денервации изменяется, причем у собак она снижается, а у кроликов в поздние сроки после денервации увеличивается.

По данным З. Ю. Нечипоренко (1956), через 30—45 дней после денервации уменьшается дезаминазная активность миозина, в то время как дезаминазная активность водорастворимых белков повышается.

Трудно сказать в настоящее время, в какой мере приведенные данные действительно отражают качественные изменения мышечных белков и, в частности, миозина. Несомненно, этот вопрос нуждается в дальнейшем изучении.

Помимо изменений белкового состава денервированных мышц отмечены также и сдвиги в содержании ряда экстрактивных веществ. Количество глютамина к 27 дню после денервации уменьшается в 1,5 раза, а содержание глютаминовой кислоты в два раза увеличивается (Н. А. Юдаев, М. А. Крехова, 1955).

Увеличение содержания глютаминовой кислоты и снижение количества глютамина в денервированной мышце было также отмечено А. И. Силаковой (1957). Мышечные экстракты из денервированных мышц по данным этого же автора обладают повышенной глютаминазной активностью.

На 7-й день после денервации обнаружено уменьшение количества карнозина, падающего до минимальных величин на 19—20-й день. Снижение креатина происходит гораздо медленнее. Содержание ансерина вначале увеличивается до 19—30 дня, а затем падает. На 25—27 день после перерезки нерва в мышце кролика появляется свободный β-аланин (Н. А. Юдаев, М. И. Смирнов, П. Г. Разина, Н. Н. Добберт, 1953).

В связи с изменением фракционного состава белков при денервации мышцы заслуживает внимания вопрос о скорости обновления белков в денервированной мышечной ткани. Данные в этом отношении оказались неоднородными.

Скорость включения N^{15} в общие белки и миозин значительно снижалась через 9 дней после денервации (животным вводили меченный по азоту глицин). Шапира, Курсаж, Дрейфус, Шапира (Schapira, Coursaget, Dreyfus, Schapira, 1953), Д. Л. Фердман

(1955), а также другие авторы (Д. Л. Фердман, В. А. Григорьева, 1955; Г. С. Шевес, 1955, 1957; Г. С. Шевес, С. Е. Эпельбаум, В. И. Рюмина, 1956; Е. Н. Медовар, 1956; И. Е. Малахов, 1957) в опытах с введением меченного S^{35} метионина также наблюдали снижение скорости включения радиактивной метки в мышечные белки через 10—12 дней после денервации. Однако это снижение было крайне незначительным.

Через 33—39 дней после денервации Д. Л. Фердман и сотр. (1955) обнаружили заметное увеличение скорости включения S^{35} в белки мышц. В настоящее время не представляется возможным дать удовлетворительное объяснение факту резкого увеличения скорости обновления мышечных белков после денервации Можно предположить, что на определенной стадии атрофического процесса наряду с повышением активности мышечных протеаз, как это было отмечено П. М. Зубенко и Е. Т. Плахотишиной (1950), усиливается также в той или иной степени и активность ферментов, осуществляющих синтез мышечных белков. Выяснение этого вопроса требует дополнительных исследований.

Углеводно-фосфорный обмен

Содержание гликогена в денервированных мышцах. Одним из наиболее ранних биохимических сдвигов, наблюдаемых уже через несколько дней после денервации, т. е. в то время, когда еще не удается обнаружить сколько-нибудь заметных морфологических изменений в мышцах, является снижение содержания гликогена (Хайнс и Ноултон, 1933, 1935, 1937, 1939; Хайнс, 1942; Хайнс и Вакхольдер, 1944; В. М. Василевский, 1944; Д. Л. Фердман, 1953, 1954, 1957; О. И. Файншмидт, 1939; П. М. Зубенко, 1954; Фишер, 1955; и др.).

В дальнейшем содержание гликогена в денервированных мышцах снижается еще более. Предположение о том, что причиной уменьшения содержания гликогена в денервированной мышце являются фибриллярные сокращения (Левин, Хехтер и Соскин — Levine, Hechter a. Soskin, 1941), начало которых по времени совпадает с наиболее резким падением содержания гликогена, не находит подтверждения в работах Д. Л. Фердмана, П. М. Зубенко и др. Уменьшение содержания гликогена обнаруживается примерно в такой же степени и при атрофии мышц, не сопровождающейся фибриллярными сокращениями, а также при введении веществ, устраняющих эти сокращения. Дальнейшие исследования показали, что падение уровня гликогена в денервированной мышце связано с нарушением ее способности к гликогенообразованию. Введение в кровь значительных количеств глюкозы не приводит к заметному накоплению гликогена в денервированной мышце (В. М. Василевский, 1944). Наряду с этим резко уменьшается и расход гликогена в денервированной мышце (О. И. Файншмидт, 1941; В. М. Василевский, 1944). По данным

Шонфельдера (Schönfelder, 1935), характер анаэробного обмена углеводов в денервированных скелетных мышцах и тонической мускулатуре, а также мышцах эмбрионов имеет значительное сходство. Образование молочной кислоты из гликогена кашицей денервированных мышц в анаэробных условиях весьма незначительно, но сильно повышается в присутствии глюкозы. Наблюдения Шонфельдера, однако, находятся в противоречии с данными Левина, Хехтера и Соскина (1941), С. Е. Эпельбаума и Л. Ф. Кантора (1954), а также в известной степени и с данными П. М. Зубенко, которые показали, что ткань и нормальных и денервированных мышц образует молочную кислоту в анаэробных условиях из гликогена, а не из глюкозы.

Интересные данные получены в отношении изменения содержания гликогена после денервации мышц у животных в раннем постнатальном периоде (Мартинек, Микулаш — Martinek, Mikulas, 1954). В мышцах и печени крыс до рождения содержится наибольшее количество гликогена. После рождения оно быстро падает и на 3-й день жизни достигает самого низкого уровня. В дальнейшем содержание гликогена возрастает и к 18-му дню жизни достигает уровня взрослых животных, причем этот уровень ниже того, который был до рождения. При денервации у крысят до 14-го дня жизни наблюдается понижение в мышцах содержания гликогена, после 18-го дня и у взрослых — повышение (следует отметить, что временное увеличение содержания гликогена в мышцах в течение первых 2—3 дней после перерезки нерва у взрослых животных отмечалось рядом исследователей). Неодинаковое влияние денервации на уровень гликогена в мышцах крыс различного возраста авторы связывают с тем, что формирование нормальных взаимоотношений между нервными регуляторными механизмами и обменом заканчиваются у крыс на 14—18-й день после рождения. Отмечено также, что при авитаминозе B_1, когда содержание гликогена в мышцах и печени крысят понижено, денервация не вызывает дальнейшего снижения уровня гликогена.

Углеводно-фосфорный обмен в работающей денервированной мышце

Для выяснения характера нарушений обмена углеводов, которые, как известно, являются основным энергетическим материалом нормальной функционирующей мышцы, значительный интерес представляют исследования обмена денервированных мышц при выполнении ими работы. Д. Л. Фердман с сотрудниками, П. М. Зубенко и др. определяли содержание гликогена и молочной кислоты в денервированных и нормальных мышцах кроликов (опыты ставились на 4—12-й день после денервации) после работы до утомления. (Сокращение денервированной мышцы вызывалось раздражением ее электрическим током).

В то время как в мышце с интактной иннервацией обнаруживалось значительное уменьшение содержания гликогена и накопление молочной кислоты, в денервированной мышце таких сдвигов обнаружено не было. Содержание гликогена и молочной кислоты в утомленной денервированной мышце практически оставалось без изменения. Не наблюдалось в утомленной денервированной мышце и заметного снижения уровня АТФ и фосфокреатина. Аналогичное явление было отмечено также при работе в организме до утомления кураризированной мышцы кролика. На основании этих наблюдений у авторов создалось убеждение, что выключение двигательной иннервации создает в мышце, работающей в организме, условия, при которых использование собственных энергетических ресурсов не играет существенной роли.

Несколько иные данные в отношении содержания гликогена в мышечной ткани при работе денервированных мышц у крыс получили Басс, Гутман и Водичка (Bass, Cutmann, Vodicka, 1955). Через три дня после денервации мышцы раздражали электрическим током и определяли содержание в них гликогена.

Уровень гликогена при этом заметно снижался. При отдыхе наблюдался ресинтез гликогена в денервированной мышце, но в меньшей степени, чем в нормальной. Расхождение в результатах исследований относительно распада гликогена при работе денервированных мышц кроликов и крыс по мнению Д. Л. Фердмана, по-видимому, связано с тем, что опыты ставились через разные сроки после денервации. Возможно также, что реакция мышцы на перерезку двигательного нерва у различных видов животных наступает с не одинаковой скоростью.

Для решения вопроса, за счет каких энергетических веществ осуществляется работа денервированных мышц, Д. Л. Фердманом и сотрудниками были поставлены опыты по изучению влияния кровоснабжения на способность к выполнению работы и на химический состав мышц. Выяснилось, что перевязка питающего мышцу кровеносного сосуда приводит к резкому снижению работоспособности мышцы как в нормальном, так и в кураризированном организме кроликов и сопровождается интенсивным распадом гликогена, креатинфосфата, а также некоторым снижением уровня АТФ и накоплением молочной кислоты. Этими опытами подчеркивалось также существенное различие в характере обменных процессов, наблюдаемых в условиях целостного организма и при исследовании изолированной мышцы. Тем не менее, вопрос о субстрате, используемом денервированными мышцами для выполнения работы, не может считаться выясненным. Может быть таким субстратом является глюкоза крови.

Фосфорные соединения мышц. Заметные нарушения при денервации мышц наблюдаются и в обмене фосфорных соединений. Содержание лабильного фосфора АТФ и АДФ в первые дни после денервации изменяется мало, но затем резко снижается (Хайнс и Ноултон, 1933, 1937, 1939; П. М. Зубенко и А. Д. Рева,

1937; О. И. Файншмидт, 1939; Хамол, Грисвольд, Мак-Интайр, 1950; Д. Л. Фердман и А. Я. Местечкина, 1952; Д. Л. Фердман, 1953, 1954, 1957; П. М. Зубенко, 1954; А. И. Комкова, 1958; и др.). Через месяц после денервации в мышце остаются лишь следы АТФ (Мандель, Бит, Вейль — Mandel, Bieth, Weill, 1953; П. С. Конашенок, 1954; и др.).

Первоначальное некоторое накопление креатинфосфата (А. В. Палладин и Р. Р. Сигалова, 1934; Мошини — Moschini, 1930; Р. Я. Юделович, 1940; и др.) через 3—4 дня сменяется постепенным снижением его содержания (Хайнс и Ноултон, 1933, 1937, 1939; П. М. Зубенко, 1939, 1940, 1947, 1954; Д. Л. Фердман, 1953; и др.).

Через 4 недели после денервации количество креатинфосфата в мышцах крыс составляет по данным П. С. Конашенок (1954) $^1/_3$—$^1/_6$ первоначальной величины.

Впрочем, как отмечает А. Б. Мандельбойм (1936) прямой зависимости между уровнем креатинфосфата в денервированной мышце и степенью ее атрофии не наблюдается. По мере развития атрофического процесса в мышцах снижается также уровень кислоторастворимых фосфорных соединений и увеличение количества неорганического фосфора, в то время как общее содержание фосфора не претерпевает значительных изменений.

Снижение уровня креатинфосфата и АТФ по мере развития атрофии мышц и наличие упомянутого выше факта о неизменяемости содержания этих веществ при работе денервированных мышц в течение сравнительно небольшого промежутка времени, разумеется, не противоречит друг другу.

Ферменты мышцы

Описанные изменения в содержании углеводов и фосфорных соединений являются отражением нарушения обмена этих веществ в результате дезорганизации ферментативных процессов. После денервации изменяется активность ряда ферментов углеводно-фосфорного обмена: падает активность фосфорилазы (В. А. Мужеев, Т. А. Свидерская и З. И. Шитова, 1936, 1937; В. М. Веселкина, 1938; Мирский и Вертхеймер — Mirsky a. Wertheimer, 1942; Варга и Костья — Varga a. Kostya, 1950; и др.), фосфоглюкомутазы (Мирский, Вертхеймер, 1942), фосфогексокиназы, дегидрогеназы глицеринового альдегида (В. И. Телепнева, 1955).

Данные относительно изменения активности альдолазы противоречивы. С. Е. Эпельбаум и Л. Ф. Кантор (1954) нашли, что в мышцах кролика через 20—25 дней после денервации активность альдолазы снизилась на 73—89%. В противоположность этому В. И. Телепнева (1957) не смогла обнаружить сколько-нибудь заметного падения активности альдолазы в мышцах кролика через 3 недели после денервации.

Активность амилазы по данным Мирского и Вертгеймера возрастает, по данным Зубенко и сотрудников — падает (П. М. Зубенко, А. Д. Рева и Е. Т. Плахотишина, 1950; П. М. Зубенко, 1954).

Значительный интерес представляют сведения об активности ферментов, участвующих в обмене макроэргических фосфорных соединений. Большинство авторов отмечает, что активность аденозинтрифосфатазы после денервации снижается, особенно на более поздней стадии атрофического процесса (Фишер, Хуф, Рамсей, Риланд, 1947; Фишер, 1948; П. М. Зубенко, А. Д. Рева, Е. Т. Плахотишина, 1950; и др.). С. Е. Севериным (1957) в опытах на кошках с выключением моторных волокон седалищного нерва через 2—4 недели после операции было обнаружено, что в кашице деэфферентированных мышц имело место повышенное расщепление АТФ по сравнению с контролем на 20—30%. Данные С. Е. Северина и его сотрудника Л. В. Сложеникиной в отношении повышения АТФ-азной активности денервированных мышц находятся в известном противоречии с результатами исследований ряда других авторов. Возможно, однако, что это противоречие только кажущееся. Можно предположить, что поскольку АТФ-азная активность мышечной кашицы обусловлена суммарной активностью миозина и водорастворимой АТФ-азы, при денервации параллельно уменьшению содержания миозина возрастает количество (или активность) водорастворимой АТФ-азы [1]. На возможность изменения соотношений активностей миозиновой и немиозиновой АТФ-азы при денервации мышц указывают, например, следующие наблюдения. Активность АТФ-азы в течение первых несколько часов после денервации не изменяется в миофибриллах и возрастает в саркозомах. Через 12—16 часов наблюдается падение активности и в миофибриллах и в саркозомах (Микелацци, Мор, Дианцани — Michelazzi, Mor, Dianzani, 1957). Более однородны сведения об изменении активности креатинфосфоферазы. Большинство авторов констатировало снижение активности этого фермента, прогрессирующее по мере развития атрофии мышц (П. М. Зубенко, 1954; В. И. Телепнева, 1955; С. Е. Северин, 1957; и др.). В опытах на лягушках денервация и обработка денервированной мышцы новокаином приводила к повышению креатинфосфоферазной активности гомогенатов мышц. АТФ-азная активность при этом не изменялась (Фейер — Feuer, 1957). В отношении изменения активности

---

[1] Термин «водорастворимая АТФ-аза», как известно, является условным. В отличие от истинной АТФ-азы миозина, катализирующего процесс дефосфорилирования АТФ с образованием АДФ, водорастворимая АТФ-аза, по-видимому, представлена суммой ферментов — пирофосфатазой, миокиназой и др., при участии которых также осуществляется процесс дефосфорилирования АТФ. Истинной «водорастворимой» АТФ-азой является АТФ-аза гранул, отличающаяся по ряду свойств от миозина.

других ферментов следует отметить повышение активности каталазы (А. В. Игнатович, 1946).

Данные об изменении в денервированной мышце активности холинэстеразы противоречивы. Р. Лейбсон (1939), А. А. Рябиновская (1940) и др. обнаружили значительное возрастание активности этого фермента. Противоположные результаты при исследовании ткани денервированных мышц получили Н. Ф. Баранова (1953), Люльман, Мушоль и др. (Lüllmann, Muscholl, 1955; Бергнер — Bergner, 1957). Понижение активности холинэстеразы было отмечено в нервно-мышечных синапсах (Снелл, Мак-Интайр — Snell, Mc Intyre, 1955, 1956). Содержание ацетилхолина в денервированной мышце оказалось несколько повышенным (Е. Ю. Ченыкаева, 1943; Н. А. Галицкая, 1949), что также возможно связано со снижением активности холинэстеразы.

Содержание кокарбоксилазы уменьшается, редуцирующая способность денервированных мышц, исследуемая по методу Тунберга, значительно падает (П. М. Зубенко, 1940; И. И. Федоров, 1945).

Активность цитохромоксидазы не претерпевает изменений (З. И. Барбашова, 1949). Активность дезаминазы адениловой кислоты, связанной с миофибриллярными белками в денервированных мышцах, падает. Дезаминазная активность водорастворимых мышечных белков, наоборот, возрастает (З. Ю. Нечипоренко, 1956).

Как уже было отмечено раньше, значительно усиливается активность мышечных протеаз (П. М. Зубенко и Е. Т. Плахотишина, 1950).

Окислительные процессы в мышцах. Значительный интерес был проявлен к изучению активности дыхания ткани денервированных мышц. Окислительные процессы в мышцах изучались различными методами. При исследовании притекающей и оттекающей от мышцы крови (опыты проводились на лягушках) Ленгли и Итагаки (Langley a. Itagaki, 1917), Сато и Касугаи (Sato a. Kasugai, 1935) (в опытах на собаках) обнаружили повышенное потребление кислорода денервированными мышцами. При аналогичной постановке опытов другая группа авторов (Хайнс, Лиз, Ноултон, 1931; Хирохаси — Hirohasi, 1940) получила противоположные результаты.

По наблюдениям И. И. Федорова (1945), у больных с повреждениями спинного мозга или перерывами периферических нервов кровь, оттекающая от атрофирующихся мышц, содержит меньше углекислоты, чем оттекающая от нормальных мышц.

С нарастанием атрофии содержание углекислоты в крови, оттекающей от мышцы, уменьшается. Интересно отметить, что при наркозе по данным И. И. Федорова различие в потреблении кислорода нормальными и денервированными мышцами исче-

зает. При исследовании окислительных процессов в мышце in vitro также получены противоречивые данные. О. П. Чепинога (1938) обнаружила в денервированной икроножной мышце кролика усиление потребления кислорода, Д. И. Шатенштейн и Д. Л. Цырлина (1935), а также В. А. Белицер, М. А. Зюкова и А. Ф. Фалюк (1937) в опытах на собаках и жабах отмечали снижение интенсивности дыхания в денервированных мышцах и, наконец, третья группа исследователей в опытах на крысах вообще не смогла обнаружить разницы в потреблении кислорода денервированными и нормальными мышцами (Левин, Хехтер и Соскин, 1941; и др.).

Г. С. Шевес и В. И. Рюмина (1956) констатировали противоположную направленность изменений окислительных процессов в белых и красных мышцах кроликов после денервации. Потребление кислорода интенсивно дышащими мышцами (m. soleus) после денервации понижается, в то время как белыми мышцами (m. gastrocnemius) — повышается.

Противоречивость данных относительно характера изменений дыхательной способности денервированных мышц в известной степени можно объяснить не одинаковыми условиями эксперимента — различный вид и возраст животного, разная продолжительность денервации и пр. Необходимо подчеркнуть, что в большинстве исследований изучалось дыхание либо целой мышцы, либо гомогената ткани, вырезанной из денервированной мышцы. При этом не учитывалось, каково содержание собственно мышечной ткани в изучаемом объекте. Совершенно очевидно, что по мере развития атрофического процесса удельный вес соединительной ткани, которая в отношении потребления кислорода более инертна, чем мышечная ткань, может весьма резко увеличиваться. В тех исследованиях, где это обстоятельство было учтено и где денервированные мышцы по возможности очищались от соединительной ткани (как, например, в опытах О. П. Чепиноги) обычно наблюдалось повышенное потребление кислорода денервированными мышцами. Физиологический смысл этого феномена неясен. Поскольку при денервации сравнительно быстро нарушаются обычные пути превращения углеводов, можно думать, что усиление дыхания на определенной стадии атрофического процесса создает дополнительные возможности использования питательных веществ денервированными мышцами. Это предположение в известной степени подтверждается экспериментальными данными С. Е. Северина об отсутствии в денервированных мышцах нарушения сопряженности между дыханием и фосфорилированием (С. Е. Северин, 1957).

Несмотря на наличие ряда спорных вопросов относительно последовательности и степени изменений парциальных реакций гликолиза и гликогенолиза, в настоящее время можно считать экспериментально вполне доказанным появление глубоких нарушений этих процессов в мышце после ее денервации.

Минеральный обмен

Значительно менее полными сведениями мы располагаем относительно нарушений в денервированных мышцах водно-минерального обмена. По данным А. Н. Лепорского (1946), О. П. Чепиноги (1938) и П. М. Зубенко (1954) после денервации содержание воды в мышце увеличивается. Р. Я. Юделович (1940) в опытах на собаках в течение нескольких ближайших дней после перерезки нерва не могла отметить изменений в содержании сухого остатка мышечной ткани. В опытах на крысах Люльман и Мушоль (Lüllmann, Muscholl, 1955) в ранние сроки после денервации обнаружили увеличение веса мышцы; в поздние же сроки они наблюдали заметную потерю веса. Денервированная мышца медленнее, чем нормальная поглощает и отдает воду. Накопление воды в значительной степени связано с увеличением в денервированной мышце соединительной ткани. Содержание воды в мышечных клетках не изменяется (Хайнс, Ноультон, 1933, 1937, 1939). Потеря мышцами K и задержка Na, Ca и Cl при перфузии смесью крови и солевых растворов или инкубации в солевых растворах в денервированных мышцах происходит интенсивнее, чем в нормальных (Хайнс, Ноультон, 1939; Хайнс, Вакхольдер, 1944; А. Н. Лепорский, 1946; Крауп и сотр. — Kraupp a. o., 1955, 1956; и др.).

Изменение электролитного состава в денервированной мышце ряд авторов связывает также с изменением соотношения между мышечной и соединительной тканями. Уменьшение содержания Mg в денервированной мышце, по мнению А. Н. Лепорского, связано со снижением концентрации АТФ и других фосфорных соединений, образующих комплексные соединения с Mg.

Потеря K мышцами увеличивается при внутриартериальном введении ацетилхолина, причем в денервированной мышце этот процесс происходит значительно (почти в 100 раз быстрее Крауп, Коллингер, Вернер, Штарманн,— Kraupp, Kollinger, Werner, Starmann, 1955).

По мнению этих авторов процессом, лимитирующим выход K в нормальной мышце, является процесс диффузии ацетилхолина из внеклеточной жидкости в пространство между нервными окончаниями и мембраной концевых бляшек. Денервация ведет к выпадению этого процесса. Наибольший интерес в данной случае представляет не столько приведенное выше соображение о мембранном механизме отдачи мышцей K (представления эти оспариваются рядом авторов), сколько сам факт влияния ацетилхолина на электролитный состав мышечных клеток. Интересно также отметить, что противоположный процесс, т. е. поступление K в мышцу из окружающего ее раствора при денервации затруднен. По данным Гарриса и Николса (Harris, Nicholls, 1956) скорость включения K в денервированную мышцу

при инкубации последней в растворе, содержащем K^{42}, заметно ниже, чем у нормальной мышцы при одинаковом общем содержании K в обеих мышцах. Авторы объясняют этот факт понижением проницаемости оболочек мышечных волокон после денервации.

Изменения содержания и обмена электролитов и воды, несомненно, связанные со сдвигами в белковом составе денервированных мышц, в свою очередь оказывают сильное влияние на физико-химические свойства мышечных клеток, на течение ферментативных процессов, а следовательно, и на функциональное состояние мышцы.

ДЕСИМПАТИЗАЦИЯ МЫШЦ

Вопрос о функциональном значении симпатической иннервации скелетной мускулатуры весьма подробно рассмотрен в физиологической литературе. Высказанное в свое время Моссо, Де Буром и др. (Моссо — Mosso, 1904; Буке — Boecke, 1911, 1913; Де Бур — De Boer, 1913, 1915; Гантер — Hunter, 1925 и др.) предположение о зависимости тонической деятельности скелетной мускулатуры от симпатической системы не получило в дальнейшем признания со стороны большинства физиологов (Л. А. Орбели с сотр. 1938; Кобб — Cobb, 1925; Шпигель — Spiegel, 1929; И. С. Беритов с сотр., 1930; и др.). По мнению Л. А. Орбели «все функции мышечного волокна вызываются соматической иннервацией» (Л. А. Орбели, 1938). Симпатическая же иннервация является «иннервацией адаптационной и трофической, т. е. управляет состоянием мышечной ткани и делает мышечную ткань более или менее подготовленной, более или менее выгодно поставленной для выполнения функции» (там же). В основе этих утверждений Л. А. Орбели лежит ряд полученных в его лабораториях данных и, прежде всего, наблюдения А. Г. Гинецинского (1923, 1926, и др.), что раздражение симпатического нерва заметно восстанавливает сократительную способность предварительно утомленной мышцы. Необходимо отметить, что если сам факт трофического влияния симпатической системы на скелетную мышцу (и другие ткани) не вызывает в настоящее время сомнений, то вопрос о природе этого влияния является предметом весьма оживленных споров. Основными методическими приемами, при помощи которых получены данные относительно влияния симпатической системы на функциональное состояние и обменные процессы в скелетной мускулатуре, являлись выключение тем или иным путем симпатической иннервации или же раздражение симпатических нервов. Как было отмечено выше, Л. А. Орбели с сотр. (А. Г. Гинецинский, 1923; В. В. Стрельцов, 1924, 1926; Г. В. Гершуни, 1930 а, б; А. Т. Худорожева, 1932; и др.) установили, что при раздражении симпатических нервов работоспособность утомленной скелетной мышцы значительно возрастает. Повышение работоспособности мышцы

сопровождается укорочением хронаксии мышцы и в большинстве случаев — нерва (А. А. Волохови и Г. В. Гершуни, 1934). Эти факты были подтверждены в лаборатории И. С. Беритова (Д. Гедевани, 1930, 1933) и рядом других авторов (П. А. Некрасов, 1928; М. В. Кирзон, 1934; и др.). Влияние симпатической иннервации на биохимические процессы в скелетных мышцах изучалось многими авторами. Раздражение симпатического нерва усиливает окислительные процессы в скелетной мышце (Г. И. Степанов, 1923), уменьшает содержание гликогена, креатинофосфата и молочной кислоты (О. И. Файншмидт и Д. Л. Фердман, 1928; Риссер и Ямада — Risser u. Yamada, 1933). При десимпатизации мышцы (опыты по методу Тунберга) отмечалось уменьшение потребления ею кислорода (Л. А. Орбели, 1926), нарушение окислительных процессов (Г. И. Степанов, 1923; Гофман и Магнус-Альслебен — Hoffmann u. Magnus-Alsleben, 1922; А. Н. Крестовников, 1927).

Распад углеводов во время работы и их синтез во время отдыха меньше на десимпатизированной стороне (В. М. Веселкина, 1938), уменьшается также и скорость расщепления креатинфосфата (В. А. Мужеев, Т. А. Свидерская и З. И. Шитова, 1936, 1937). Работа симпатэктомированной мышцы сопровождается значительным накоплением аммиака (Е. Я. Геймани и В. А. Мужеев, 1939). По данным А. В. Лебединского и Н. И. Михельсон (1934), симпатическая система влияет также на упруго-вязкие свойства скелетной мышцы. Отмечено участие симпатической иннервации в регуляции водного обмена мышцы (Гофман, Вертхеймер — Hoffmann, Wertheimer, 1927). Таким образом, многочисленные наблюдения с несомненностью доказывают влияние симпатической системы на химизм и течение разнообразных обменных процессов в скелетной мышце. Наряду с этим, однако, необходимо подчеркнуть, что возможность прямого трофического влияния на ткани со стороны симпатической системы оспаривается рядом исследователей (И. С. Беритов, 1930, Кеннон, Ньютон, Брайт и др.— Cannon, Newton, Bright a. o. 1929). В недавно выполненной в лаборатории С. Е. Северина работе Л. В. Сложеникиной (1957) отмечается, что десимпатизация мышцы не вызывает изменений, ни в составе ее фосфорных соединений, ни в углеводно-фосфорном, ни в окислительном обмене. Не изменяется при десимпатизации и фракционный состав мышечных белков (И. И. Иванов, Н. И. Мирович, 1960).

ВЫКЛЮЧЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОЙ ИННЕРВАЦИИ

Непосредственное влияние чувствительной иннервации на биохимические процессы в скелетной мускулатуре, видимо, не велико.

Содержание гликогена, молочной кислоты, фосфокреатина и АТФ, а также каталазы, глютатиона, аскорбиновой кислоты и

миоглобина при деафферентации мышц заметно не менялось (А. В. Игнатович, 1946; В. Н. Борсук и др., 1948). Обнаружено некоторое снижение интенсивности связывания неорганического фосфора кашицей деафферентированной мышцы. Связанный неорганический фосфор накапливался главным образом в виде фруктозодифосфата, что, по мнению Л. В. Сложеникиной (1957), свидетельствует об относительно медленном течении последующих этапов расщепления углеводов и, в частности, реакции гликолитической оксиредукции. Нарушения дыхательного фосфорилирования при этом обнаружено не было.

Приведенные выше экспериментальные данные о влиянии различных форм нарушений нервных связей в скелетной мышце указывают, что наиболее глубокие морфологические и функциональные изменения в мышечной ткани связаны, главным образом, с прекращением трофических влияний на скелетную мускулатуру со стороны моторной иннервации. Этот вывод, разумеется, отнюдь не противоречит возможности возникновения различных нарушений при выключении или дисфункции симпатической и чувствительной иннервации.

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В МЫШЦАХ ПРИ РЕИННЕРВАЦИИ

Имеются сравнительно скупые данные о динамике биохимических изменений в мышечной ткани в течение и после реиннервации. Вероятно, одним из наиболее ранних биохимических признаков восстановления контакта нерва с мышцей является увеличение содержания в ней гликогена (Лацере, Томсон, Хайнс — Lazere, Thomson, Hines, 1943, и др.). В опытах с введением крысам глюкозы после передавливания нерва было показано, что способность мышцы синтезировать гликоген в процессе реиннервации меняется. В раннем периоде реиннервации способность мышцы к синтезу гликогена снижена, в более поздние сроки она повышалась и еще позднее нормализуется (Беранек, Гутманн, Врбова — Beranek, Gutman, Vrbova, 1954). Повышенная чувствительность мышцы к ацетилхолину остается еще продолжительное время после реиннервации. Еще до появления двигательной реакции повышается содержание ряда азотистых экстрактивных веществ — карнозина, ансерина, креатина и глутаминовой кислоты. К моменту появления двигательной функции содержание карнозина в мышце больше, а ансерина меньше, чем в нормальной мышце кролика (Н. А. Юдаев, М. И. Смирнов, П. Г. Разина, Н. Н. Добберт, 1953).

Врастание нерва в мышцу сопровождается постепенным повышением в последней содержания креатинфосфата и АТФ. Отмечается параллелизм биохимических и физиологических сдвигов в процессе реиннервации (П. М. Зубенко, П. Е. Моцный, Е. Т. Плахотишина, А. Д. Христич, 1955).

Существенное теоретическое значение и большой интерес для клинической практики имеет изучение воздействий, способствующих замедлению атрофического процесса в мышцах при их денервации и объективная диагностика функционального состояния денервированных мышц. Наряду с общеизвестными в клинике различными радикальными и консервативными лечебными приемами, предупреждающими или замедляющими развитие мышечной атрофии, в последние годы для этой цели с известным успехом стали применяться препараты аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ). Круг заболеваний, для лечения которых начинают использовать АТФ, значительно расширяется. В настоящее время АТФ применяется для лечения различных форм миопатий, остаточных явлений полиомиелита, сосудистых, костных заболеваний и пр. Механизм терапевтического действия АТФ не может считаться выясненным.

ГЛАВА IX

ТЕНОТОМИЯ

Перерезка, удаление части, а также пересадка сухожилий, являются распространенными приемами хирургического вмешательства при некоторых формах патологии опорно-двигательного аппарата. Эти операции наиболее широко применяются в ортопедической практике с целью восстановления двигательной функции и исправления деформаций при контрактурах, параличах определенных мышечных групп, при некоторых травматических повреждениях и т. д.

Естественно поэтому, что сведения о характере происходящих изменений в двигательном аппарате при этих вмешательствах, времени и полноте регенерации, об особенностях функциональных перестроек в деятельности мышц, а также ряд других вопросов в этой области, глубоко интересует клиницистов.

Физиологические наблюдения в эксперименте и клинике, а также сама клиническая практика, дают многочисленные примеры разнообразных форм адаптации двигательного аппарата к изменившимся функциональным условиям, причем механизмы этих приспособительных реакций далеко не всегда являются ясными.

Хорошо известен положительный эффект пересадки сухожилий определенных мышц или группы мышц, для замены ими парализованных мышц. В результате такой операции пересаженная мышца постепенно адаптируется к выполнению новой физиологической функции, противоположной той, которую она имела до пересадки, например, из сгибателя превращается в разгибателя. Несомненно, что ведущая роль в этой функциональной перестройке принадлежит нервной системе и, в част-

ности, выработке новых рефлекторных связей, однако, некоторые изменения наблюдаются и в самой мышце. Об этом говорят, например, сдвиги в величине реобазы и хронаксии в пересаженной мышце, изменения степени напряжения и т. д. (Ю. М. Уфлянд, 1956).

По данным Бургиньона (Bourguignon, 1955, 1957), P^{32}, введенный морским свинкам подкожно, включается более интенсивно во фракцию общего фосфора мышечной ткани бицепса, чем трицепса.

Подобное различие в скорости включения меченного фосфора автор наблюдал и на других мышцах-антагонистах.

Значительный интерес был проявлен к изучению функциональных и морфологических изменений в мышце после перерезки или удаления части сухожилия. Тенотомированная мышца, лишенная одного из пунктов прикрепления, ставится в совершенно необычные условия. При сокращении такая мышца практически не выполняет механической работы.

Сам характер сокращения является изотоническим. При этих условиях, несмотря на сохранение нервных связей, в мышце наблюдается ряд заметных физиологических и биохимических сдвигов.

Одновременно, или обычно несколько позднее, выявляются и морфологические изменения атрофического и отчасти дегенеративного характера. По данным Ю. М. Уфлянда и его сотрудников (1952, 1954, 1956), С. Я. Фридмана (1950, 1953) и др., тенотомированная мышца обнаруживает прогрессивно возрастающее падение своей возбудимости, хронаксия ее увеличивается, что, по мнению авторов, говорит об уменьшении скорости физико-химических процессов, лежащих в основе сокращения. Процесс возбуждения, судить о котором можно по биопотенциалам действия, также ухудшается.

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТЕНОТОМИРОВАННЫХ МЫШЦАХ

Довольно рано выявляются и биохимические изменения в ткани тенотомированных мышц. Направленность биохимических сдвигов в общем носит такой же характер, как и при денервации мышц.

Азотистый обмен и белки мышц

Нарушение двигательной функции мускулатуры в результате тенотомии сопровождается заметными изменениями азотистого обмена в мышечной ткани.

Определенные сдвиги происходят также и в составе белков тенотомированных мышц. Уже на 3-й день после перерезки сухожилия, по данным Г. С. Шевеса (1953, 1955), можно наблюдать усиление протеолиза при инкубации мышечной кашицы в ацетатном буфере при pH 4. Интенсивность протеолиза в тено-

томированной мышце на протяжении двух недель после перерезки сухожилия заметно увеличивается и в 2—3 раза превосходит нормальную величину. В более позднее время, через 17—22 дня наступает некоторое снижение протеолиза. Как уже было отмечено раньше, аналогичное явление наблюдалось и в денервированных мышцах. По истечении 10 дней после перерезки сухожилия обнаруживалось заметное увеличение скорости включения радиоактивного метионина в мышечные белки после подкожного введения метионина с S^{35}. Скорость обновления белков, судя по интенсивности включения радиоактивной серы, в тенотомированных мышцах была выше, чем в денервированных. Более детальные сведения о скорости включения радиоактивной серы в мышечные белки после введения радиометионина были получены З. Ю. Нечипоренко (1955). По данным этого автора, содержание радиоактивной серы было повышенным во всех изученных им белковых фракциях — общем белке, водорастворимых белках, актине и миозине. Особенно резкое увеличение радиоактивности отмечалось в миозине.

В связи с развивающимися атрофическими изменениями в мышце уменьшается содержание собственно мышечных белков и увеличивается количество белков соединительной ткани, в частности коллагена (В. А. Григорьева, 1954; Г. С. Шевес, 1955; З. Ю. Нечипоренко, 1955; Д. Л. Фердман, 1953, 1954, 1957; Фишер и Рамсей, 1946; и др.). По данным З. Ю. Нечипоренко убыль миозина значительно превосходит убыль других мышечных белков. Хеландер (Helander, 1957), изучавший изменения содержания различных азотистых фракций в тенотомированных мышцах, обнаружил уменьшение содержания всех изученных им азотистых фракций за исключением белков стромы. Содержание последних заметно увеличивалось (табл. 17).

Таблица 17

Содержание азотистых фракций, полученных из нормальных и тенотомированных мышц тех же самых кроликов[1]
(средние величины из 17 определений), Хеляндер, 1957

Азотистые фракции	Содержание азота в мг на 1 г мышечной ткани		В процентах к содержанию азота в нормальных мышцах	Содержание азота в процентах от общего азота мышцы	
	нормальные мышцы	тенотомированные мышцы		нормальные мышцы	тенотомированные мышцы
Общий азот	32	26,4	83	—	—
Миофибриллярные белки	18,7	14,0	75	58,5	52,7
Саркоплазматические белки	7,7	6,8	92	24,3	25,9
Небелковый азот	3,2	2,8	89	10,0	10,6
Белки стромы	2,6	3,1	120	8,0	11,6

[1] Животные убиты через 20 дней после тенотомии.

При тенотомии, так же как и при денервации, но в несколько меньшей степени, изменяется содержание небелкового азота в мышцах — уменьшается содержание глютамина и возрастает количество глютаминовой кислоты (Н. А. Юдаев, Крехова М. А., 1955) и снижается содержание карнозина и креатина. В отличие от денервации при тенотомии в мышцах не образуется свободного β-аланина (Н. А. Юдаев, М. И. Смирнов, П. Г. Разина и Н. Н. Добберт, 1953).

Нарушение углеводно-фосфорного обмена

При перерезке сухожилий, по мере развития атрофического процесса, наблюдаются заметные сдвиги в углеводном обмене. Одним из наиболее ранних проявлений нарушения углеводного обмена является снижение содержания гликогена в тенотомированных мышцах (Хамол, Грисвольд, Мак-Интайр, 1950; Д. Л. Фердман, 1953; и др.).

Торможение интенсивности гликолиза, обнаруженное при тенотомии, по данным большинства авторов, по своему механизму аналогично тому, которое имеет место и при денервации, и обусловлено, главным образом, изменениями активности ряда ферментов — фосфорилазы, фосфоглюкомутазы, фосфогексокиназы, дегидразы фосфоглицеринового альдегида и др. Ведущее значение в нарушении анаэробного превращения углеводов имеет понижение активности ферментных систем, катализирующих реакцию гликолитической оксиредукции (С. Е. Северин, 1957; В. И. Телепнева, 1955). Однако, по данным С. Е. Эпельбаум и Л. Ф. Кантор (1954), в мышцах после перерезки ахиллова сухожилия активность ферментов, принимающих участие в гликолитических процессах, мало отличается от нормы. Не было обнаружено этими авторами при тенотомии и существенного снижения активности альдолазы, обычно наблюдаемого в денервированных мышцах. Ряд авторов (Хомол, Грисвольд, Мак-Интайр, 1950; Н. А. Куценко, Г. А. Нечаева, 1953) не мог отметить в тенотомированных мышцах заметных изменений в содержании АТФ и креатинфосфата.

Неоднородность данных, полученных различными исследователями, вероятно, в значительной степени объясняется тем, что объектами изучения являлись мышцы, по степени атрофии резко отличавшиеся друг от друга. Заслуживают также внимания высказывания С. Е. Северина (1957), при обсуждении опытов по дыхательному фосфорилированию в патологически измененных мышцах, о том, что противоречивые результаты объясняются своеобразными и характерными для каждого отдельного случая нарушениями процессов обмена мышц, обусловленными изменившимся соотношением скоростей отдельных ферментативных реакций.

Обычно вместе с появлением атрофических изменений в

мышце наблюдается уменьшение содержания креатинфосфата и АТФ. Эти изменения могут быть обнаружены уже на 10—20-й день после перерезки сухожилия (Хамол и др., 1950). По данным В. А. Григорьевой (1954), в мышцах кроликов через 27—35 дней после тенотомии заметно снижено содержание неорганического фосфора, фосфора АТФ и креатинфосфата и почти не изменяется количество общего и кислоторастворимого фосфора.

В опытах на кроликах В. И. Телепнева (1953, 1955) показала, что через 4 недели после тенотомии в мышцах обнаруживается заметное, но все же в значительно меньшей степени, чем при денервации снижение фосфорилирующей активности, обусловленное замедлением фосфорилазной и фосфогексокиназной реакции. Аналогичные факты были изложены и в более ранних исследованиях (Шонфельдер, 1935; Варга, Костья,— Varga, Kostya, 1950; и др.). В связи с изменением активности ряда ферментов значительно изменяется и интенсивность обмена фосфорных соединений.

Исследования, проведенные с применением радиоактивного фосфора (Жильберт, Хайнс — Gilbert, Hines, 1950; В. А. Григорьева, 1954) показали, что мышцы после перерезки сухожилия накапливают радиоактивного фосфора больше, чем контрольные.

В. А. Григорьева (1954), изучавшая скорость внедрения радиоактивного фосфора в различные фракции фосфорных соединений мышц — общего фосфора, кислоторастворимого, АТФ, неорганического фосфора и фосфора креатинфосфата,— показала, что только у последнего соединения скорость обновления фосфора меняется мало, в то время как во всех остальных фракциях она значительно выше, чем в нормальных мышцах.

Неизменяемость скорости обмена креатинфосфата при значительном увеличении этого показателя у АТФ может, по мнению В. А. Григорьевой, служить указанием на изменение при атрофии мышц механизма переноса фосфорной кислоты с АТФ на креатин.

Интересно отметить, что, по наблюдениям того же автора, ежедневное внутримышечное введение кроликам АТФ (10 мг монокальциевой соли) приводило к уменьшению потери веса атрофированной в результате тенотомии мышцы, способствовало сохранению на более высоком уровне содержания АТФ и поддерживало на нормальном уровне интенсивность обмена фосфорных соединений.

БИОХИМИЧЕСКИЕ СДВИГИ ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИИ

Хорошо известно, что длительная иммобилизация, вызванная контрактурами, различными формами костно-суставных поражений, наложением на длительное время гипсовых повязок и т. д., также приводит к атрофическим процессам в мышцах.

Следует, однако, отметить, что в большинстве подобных случаев имеет место не полная иммобилизация и именно этим, вероятно, следует объяснить сравнительно медленное развитие атрофии мускулатуры.

Характер обменных сдвигов в мышечной ткани при иммобилизации близок тем, которые наблюдаются и при тенотомии (В. А. Григорьева, 1954; А. В. Стрелина, 1956; и др.).

Изменение фракционного состава мышечных белков, выявленное иммобилизацией конечности животного, представлено на табл. 18.

Таблица 18

Содержание азотистых фракций, полученных из нормальных и иммобилизованных мышц тех же самых кроликов[1]
(средние величины из 17 определений), Хеландер, 1957

Азотистые фракции	Содержание азота в мг на 1 г мышечной ткани		В процентах к содержанию азота в нормальных мышцах	Содержание азота фракционного в процентах от общего азота мышцы	
	нормальной мышцы	иммобилизованной мышцы		нормальной	иммобилизованной
Общий азот	32,4	30,4	94	—	—
Миофибриллярные белки	18,7	14,9	79	57,1	47,8
Саркоплазматические белки	7,9	8,9	115	24,3	29,2
Небелковый азот	3,3	3,6	110	10,0	11,7
Белки стромы	2,7	3,3	122	8,4	10,9

[1] Животные убиты через 20 дней после иммобилизации мышцы.

Как и после тенотомии, при иммобилизации наблюдается уменьшение содержания миофибриллярных белков при одновременном увеличении количества белков стромы.

Обобщая приведенные выше данные, следует еще раз подчеркнуть, что общая направленность биохимических сдвигов при денервации, тенотомии и иммобилизации мышц одинакова, отличия же касаются, главным образом, количественной стороны и времени возникновения описанных нарушений. Объяснение этому, вероятно, следует искать в известной общности механизма возникновения атрофии. Во всех этих случаях имеет место длительное нарушение функционального состояния мышц, которое и приводит к атрофическому процессу. Некоторое, а в определенные периоды и весьма значительное усиление обменных процессов — скорости обновления фосфорных соединений, белков и т. д.— по-видимому, носит временный, отчасти компенсаторный характер. По мере дальнейшего развития и углубления атрофического процесса в мышцах это временное оживление биохимических реакций все более и более угасает.

ГЛАВА X

ПРОГРЕССИВНЫЕ МЫШЕЧНЫЕ АТРОФИИ

Все многообразие форм прогрессивной мышечной атрофии, как известно, обычно делят по патогенетическому признаку на две группы:

I. Первичные миопатии, возникающие при отсутствии функциональных нарушений со стороны нервной системы и

II. Вторичные неврогенные атрофии мышц, связанные с выпадением функции двигательных клеток передних рогов спинного мозга и их аксонов. В группе неврогенных мышечных атрофий в свою очередь различают спинальную и невральную формы в зависимости от того, поражены ли только двигательные клетки передних рогов спинного мозга или поражение захватывает и двигательные аксоны периферических нервов. По С. Н. Давиденкову (1956), все типы прогрессивной мышечной атрофии могут быть представлены в следующем виде:

Первичная миопатия или прогрессивная мышечная дистрофия	Псевдогипертрофия (форма Дюшенна). Юношеская миопатия (ювенильная форма Эрба). Плече-лопаточно-лицевая миопатия (форма Ландузи-Дежерина).
	Спинальная форма прогрессивной мышечной атрофии (типа Вердниг-Гофмана).
Вторичная неврогенная мышечная атрофия	Невральная прогрессивная мышечная атрофия (периферическая форма мышечной сухотки Рота, амиотрофия Шарко-Мари).

Помимо указанных выше форм мышечной и нервно-мышечной патологии существует еще ряд клинических разновидностей.

Этиология и патогенез перечисленных заболеваний нервно-мышечной и мышечной системы не могут считаться выясненными.

Предположение о наследственном предрасположении к некоторым из этих форм заболеваний, высказанное рядом главным образом зарубежных авторов встречает ряд возражений и, кроме того, не вносит ясности в вопрос о происхождении и механизме возникновения нервно-мышечных болезней. Есть серьезные основания предполагать, что природа патогенетических факторов, вызывающих различные формы расстройств нервно-мышечной системы, не является во всех случаях одинаковой. Об этом говорит сама клиника заболеваний, наличие определенных особенностей патологоанатомических изменений в мышцах, а также неидентичность биохимических сдвигов, наблюдаемых у больных различными формами нервно-мышечной и мышечной патологии.

Попытки доказать наличие в крови токсических веществ, вызывающих атрофические процессы в мышцах и параличи, ока-

зались безуспешными (Ламмерс, Мост ван Спик — Lammers, Most van Spiyk, 1954).

Обнаружение в ряде случаев у миопатов эндокринных расстройств и последующее использование гормональных препаратов с терапевтической целью в отношении мышечной патологии дало весьма не однородный эффект (Соффер, Геллер, Габрилов — Soffer, Geller, Gabrilove, 1958). Создается впечатление, что в большинстве случаев гормональные расстройства лишь сопутствуют основному заболеванию. В большом проценте случаев у лиц с нервно-мышечными заболеваниями вообще не удается обнаружить заметных нарушений в деятельности эндокринного аппарата.

Детальное изучение характера биохимических сдвигов при заболеваниях нервно-мышечной системы несомненно могло бы приблизить нас к выяснению патогенеза этих страданий. Особенное значение при этом приобретает изучение обменных нарушений в пораженных тканях.

Значительным препятствием на этом пути, однако, является невозможность воспроизведения подобных заболеваний в эксперименте на животных.

С 1928 г., когда было установлено, что Е-авитаминозная пища вызывает у ряда животных (кроликов, морских свинок, хомяков, крыс и др.) изменения мышечной ткани, подобные тем, которые наблюдаются при прогрессивной мышечной дистрофии, появилась возможность изучать это заболевание в эксперименте.

Наиболее полное и систематическое изучение биохимических сдвигов при Е-авитаминозе у животных проведены Д. Л. Фердманом и его сотрудниками (1953, 1954, 1955, 1957 и др.).

Необходимо, однако, отметить, что и по своему происхождению и по характеру течения (длительности, локализации) Е-авитаминоз животных не может быть отождествлен с прогрессивной мышечной дистрофией человека.

Следует еще раз подчеркнуть, что по сути дела мы еще не знаем ни этиологии прогрессивной мышечной атрофии, ни деталей патогенеза авитаминоза Е. Имеются сведения, что витамину Е принадлежит существенная роль в цепи реакций биологического окисления. В частности, показано, что α-токоферол и его дериваты ускоряют течение окислительно-восстановительного процесса между цитохромами *b* и *c* (Нейсон, Дональдсон, Леман — Nason, Donaldson, Lehman, 1957). Однако эти данные совершенно недостаточны для объяснения полиморфной клинической картины и биохимических сдвигов, наблюдаемых при недостатке в пище витамина Е.

Тем не менее, экспериментальная мышечная дистрофия у животных, имея много общих черт с клинической формой этого заболевания, с известным правом может быть использована как его наиболее близкая модель.

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ ПРОГРЕССИВНЫХ МЫШЕЧНЫХ АТРОФИЯХ

Ниже излагаются результаты биохимического изучения различных мышечных и нервно-мышечных заболеваний и главным образом экспериментальной и клинических форм прогрессивной мышечной дистрофии.

Белки мышц и азотистый обмен

Количественные изменения мышечных белков. По мере возникновения и развития атрофического процесса общая масса мышц у Е-авитаминозных животных заметно уменьшается, часть мышечных волокон подвергается постепенному некрозу (Н. Максимович, Д. Л. Фердман, В. А. Григорьева, 1951; Паппенгеймер — Pappenheimer, 1939). Одновременно увеличивается содержание соединительнотканных белков, в частности коллагена, и уменьшается общее количество собственно мышечных белков. Процентное содержание коллагена при далеко зашедшей атрофии мышц увеличивается вдвое. Наряду с этим в мышцах уменьшается содержание фракции растворимых в воде белков и примерно вдвое уменьшается содержание миозина (Д. Л. Фердман, 1953, 1954, 1957, 1958; В. А. Григорьева, 1955; и др.). Резкое снижение содержания сократительных белков в мышцах при Е-авитаминозе у животных обнаружено также Дрейфусом, Шапира и др. (Дрейфус, Шапира, Шапира, 1954 и др. Хетеньи (Hetenyi, 1956) изучал при помощи электрофореза на бумаге динамику изменений фракционного состава мышечных белков при развитии мышечной атрофии в результате Е-авитаминоза. В экстрактах мышечных белков солевыми растворами с высокой ионной силой как у здоровых, так и у Е-авитаминозных животных было обнаружено три электрофоретических пика — I, II и III. Пик I, по-видимому, соответствует актомиозину, II — белкам миогеновой группы и III — наиболее подвижной фракции, миоальбумину. На электрофореграмме экстрактов, полученных из мышц Е-авитаминозных животных отмечалось значительное уменьшение площадей пиков I и II и увеличение площади III пика. Подобная же картина наблюдалась и при атрофии, вызванной денервацией мышцы. Поскольку между изменениями фракционного состава белков и степенью атрофии наблюдался четкий параллелизм, автор не без оснований считает, что электрофоретический метод изучения состава мышечных белков является объективным приемом наблюдения за развитием атрофического процесса.

Бусканио и Корси (Buscanio, Corsi, 1959) провели электрофоретическое исследование белков скелетной мускулатуры при различных мышечных заболеваниях. Электрофоретическая картина белков, извлекаемых из мышц солевыми растворами с низкой ионной силой отличалась от нормальной изменением соотно-

шения компонентов I группы (*m, n, l*). Отмечалось также заметное увеличение пика миоальбумина.

На электрофореграммах мышечных экстрактов с высокой ионной силой обнаруживался выраженный пик γ-миозина (контрактина). Пик миозина был несколько снижен, а актомиозина — увеличен.

Отношение площадей пиков $\frac{\text{миоген}}{\text{миозин}+\text{актомиозин}}$ представляющее для мышц здоровых людей величину, близкую к единице, при мышечных заболеваниях, как правило, значительно возрастало.

Следует отметить, что отмеченные выше сдвиги в белковом составе мышечных белков не являются специфичными для Е-авитаминоза и прогрессивной мышечной атрофии человека. Подобные же изменения фракционного состава белков, извлекаемых солевыми растворами с высокой ионной силой (раствор Вебера), были обнаружены и при атрофии мышц у детей с последствиями полиомиелита (И. И. Иванов, В. А. Юрьев, Д. А. Новожилов, Л. А. Михайловская, Б. М. Крымская) а также, по нашим данным, и при других формах мышечной патологии. Появление на электрофореграммах экстрактов денервированных мышц пика γ-миозина наблюдал Крепакс (Crepax, 1953). Резкое увеличение относительного содержания миоальбумина особенно отчетливо выявляется при электрофорезе белков, экстрагированных из гомогенатов атрофичных мышц солевыми растворами с низкой ионной силой (И. И. Иванов, В. А. Юрьев и др., 1959; Бехтель, Аллен, Добсон — Baechtel, Allen, Dobson, 1958; и др.). Несомненный интерес представляет изучение влияния недостаточности витамина Е в корме беременных самок на мышечную ткань родившихся животных. Румери, Мауэр и Мейсон (Rumery, Mauer, Mason, 1955), специально изучавшие этот вопрос, констатировали, что содержание общего, белкового и остаточного азота в икроножных мышцах крысят, родившихся от самок, получавших после оплодотворения диету, лишенную витамина Е, к 18-му дню жизни перестало возрастать, а на 21-й день начинало заметно снижаться. У контрольных крысят, родившихся от самок, получавших во время беременности нормальную диету, этих явлений отмечено не было, напротив, содержание перечисленных компонентов по мере роста животных увеличивалось. У крысят от Е-авитаминозных самок отмечалось в икроножных мышцах резкое понижение содержания актомиозиновой фракции и повышение количества нерастворимых белков, т. е. белков стромы. Фракция растворимых при низкой ионной силе белков в количественном отношении изменялась мало у крысят обеих групп. Позднее часть подопытных крысят погибала, остальные спонтанно выздоравливали. К 30-дневному возрасту содержание мышечных белков у выздоровевших животных возвращалось к норме.

Качественные изменения мышечных белков. При Е-авитаминозе у животных довольно рано наступают и некоторые качественные изменения мышечных белков. Аззоне и Алоизи (Azzone, Aloisi, 1955) показали, что уменьшение растворимости миозина может служить одним из ранних показателей недостаточности витамина Е у животных. Отмечены также изменения и других физико-химических свойств мышечных белков и, в частности, потеря или ослабление способности актина к полимеризации (Алоизи, Асценци, Бонетти — Aloisi, Aszenzi, Bonetti, 1953). Изменения вязкости и двойного лучепреломления в потоке растворов миозина, полученного из атрофичных мышц, обнаружено не было.

Корси (Corsi, 1957) изучал свойства миозина, экстрагированного из изолированных миофибрилл кролика при миодистрофии. При экстракции буферными растворами с высокой ионной силой количественный выход миозина свободного или связанного с актином соответствовал получаемому из миофибрилл нормальных мышц. Очищенный миозин обладал обычной вязкостью, однако его АТФ-азная активность оказалась несколько сниженной.

В недавней работе Корси, Галуции и Баргелини (Corsi, Gallucci Bargellini, 1959) было показано, что из миофибрилл как здоровых, так и Е-авитаминозных кроликов экстрагируется приблизительно одинаковое количество миозина. В то же время содержание свободного актина, определяемого методом фракционного высаливания, у больных животных оказалось значительно более высоким. Этот факт, свидетельствующий, по-видимому, о меньшей «прочности» актомиозинового комплекса при Е-авитаминозе, возможно, играет определенную роль в нарушении сократительной функции мышц.

О качественных изменениях актомиозина при атрофических процессах в мышцах свидетельствует трудность получения актомиозиновых нитей и их меньшая прочность по сравнению с нитями, полученными из актомиозина нормальных мышц.

Изучение спектральных свойств растворов миозина показало, что кривые спектра поглощения миозина, выделенного из мышц молодых нормальных кроликов и кроликов с Е-авитаминозом при pH 8,5 имеют один и тот же максимум поглощения в области близкой к 280 мм. Некоторое отличие было обнаружено при изучении спектра поглощения миозина при pH 11,4. При этом pH максимум поглощения миозина из дистрофических мышц остается таким же, как у миозина нормальных мышц, но имеет увеличенное светопоглощение в коротковолновой области спектра (Д. Л. Фердман, А. Я. Местечкина, 1951).

Несмотря на ограниченные сведения об изменениях свойств белков при мышечной атрофии, создается определенное впечатление, что в нарушении сократительной функции атрофированной мускулатуры существенную роль играют не только

количественные сдвиги, но и качественные изменения мышечных белков и в особенности белков актомиозинового комплекса.

Скорость обновления мышечных белков. Вопрос о скорости обновления белков мышц Е-авитаминозных животных изучен мало. В. А. Григорьева (1955) на основании опытов с введением меченных по сере метионина и по углероду в карбоксильной группе глицина отмечает особенно активное обновление водорастворимых белков и отчасти актина. Скорость обновления миозина и коллагена по данным В. А. Григорьевой почти не отличаются от нормы. Эти изменения в скорости обновления белков, очевидно, не связаны с голоданием животного, так как при голодании наблюдается снижение скорости обновления общих и водорастворимых белков мышц. Тем не менее, недостаток белка в питании, видимо, может играть определенную роль в изменениях белков мышц. Длительное лечение белковыми гидролизатами больных миопатов в ряде случаев приводило к заметному улучшению их клинического состояния (Уилсон — Wilson, 1957).

Увеличение скорости обновления белков скелетной мускулатуры при Е-авитаминозе наблюдала также С. Н. Цынкаловская (1957, 1958).

В сердечной мышце Е-авитаминозных животных интенсивность обновления общих и водорастворимых белков оказалась несколько сниженной (Д. Л. Фердман, 1955).

Нарастание скорости обновления мышечных белков при Е-авитаминозе, по-видимому, имеет близкую связь с усилением активности протеолиза в мышечной ткани. По данным Уэнсток и др. (Уэнсток, Голдрич, Мильорат — Weinstock, Goldrich, Milhorat, 1955) протеолитическая активность экстрактов и гомогенатов мышечной ткани Е-авитаминозных животных по отношению к денатурированному гемоглобину значительно выше, чем у нормальных кроликов. Интересно отметить, что протеолитическая активность тканей других органов (селезенка, печень, почки) при этом не изменялась. В дальнейшем сообщении этих же авторов (Уэнсток, Голдрич, Мильорат, 1956) приведены данные об увеличении активности пептидаз в мышечной ткани Е-авитаминозных кроликов.

Азотистые экстрактивные вещества мышц

При Е-авитаминозе в мышцах изменяется содержание ряда экстрактивных веществ. Количество креатина, карнозина и ансерина в мышечной ткани уменьшается (И. А. Шабанова, 1953). Содержание аммиака, глютамина и глютаминовой кислоты увеличивается (А. И. Силакова, 1953).

Изучению обмена креатина при мышечных заболеваниях посвящено большое количество работ. Хорошо известно, что величина так называемого креатинового показателя $\frac{\text{креатин} + \text{креатинин}}{\text{креатинин}}$

значительно изменяется в сторону увеличения при различных формах мышечной патологии. Наличие выраженной креатинурии особенно типично для первичных миопатий и в известной степени является дифференциально-диагностическим признаком последних.

По данным Менне и Бекман (Menne u. Beckmann, 1955), у детей, младше 8 лет, страдающих прогрессивной мышечной дистрофией, обмен креатина протекает иначе, чем в более поздние годы. Так, больные дети четырех-семилетнего возраста выделяют с мочей меньше креатина, чем их здоровые сверстники. В отличие от этого, выделение креатина у большинства больных детей восьми—шестнадцати лет превышает норму. Авторы объясняют это различие перестройкой обмена креатина и креатинина и, возможно, аминокислот под влиянием половых гормонов. Выделение креатинина у больных миопатией детей всех возрастов понижено. Во многих случаях понижено также общее содержание креатина и креатинина в крови. Следует, однако, отметить, что другие авторы находили заметное повышение уровня креатина в крови миопатов. Для решения вопроса о происхождении креатинурии при прогрессивной мышечной дистрофии Бенедикт и др. (Бенедикт, Калинская, Скаррон, Уэртхейм, Стеттен — Benedict, Kalinsky, Scarrone, Wertheim, Stetten, 1955) вводили меченный азотом N^{15} глицин в пищу двух больных с выраженной формой заболевания, находящихся на диете, не содержащей креатина. Определение концентрации N^{15} в креатине и креатинине мочи показало, что в первые дни опыта содержание N^{15} в креатине было значительно выше, чем в креатинине. На 8—10-й день концентрация N^{15} резко уменьшилась и была приблизительно одинаковой как в креатине, так и в креатинине мочи.

На основании результатов этих опытов авторы приходят к выводу что при прогрессивной мышечной дистрофии креатин, появляющийся в моче, не мышечного происхождения, но представляет собой креатин, синтезированный в печени и неиспользованный мышцами.

Этот вывод в известной степени поддерживается Лейпертом и Ванко (Leipert, Wanko, 1956), показавшими, что сахарная нагрузка при мышечной дистрофии сопровождается повышением содержания в крови фосфорных эфиров углеводов и убылью АТФ, а также креатинурией.

Авторы рассматривают последнюю как следствие ослабления синтеза креатинфосфата из-за недостатка АТФ. Увеличение содержания креатина в моче в результате нагрузки углеводами свидетельствует о том, что возникновение креатинурии при прогрессивной мышечной дистрофии не связано с недостатком углеводов, как это имеет место при так называемой «физиологической» креатинурии у новорожденных детей (Н. Ф. Толкачевская, 1951).

Вопрос о механизме возникновения креатинурии при миопатиях нельзя считать решенным. Тем не менее, приведенные экспериментальные данные с несомненностью указывают на возможную связь этого явления с нарушением процессов фосфорилирования. Такому положению на первый взгляд противоречат результаты исследований Д. Л. Фердмана с сотрудниками и других авторов, установивших усиление скорости обновления фосфорных соединений и в том числе креатинофосфата в дистрофированных мышцах. Возможно, однако, что это противоречие является только кажущимся. Можно, например, с известными основаниями предположить, что причиной (или может быть одной из причин) креатинурии является не ослабление процесса фосфорилирования креатина в самой мышечной ткани, а замедление проникновения креатина из крови в дистрофированную мышцу, в результате чего известная часть креатина не успевает фосфорилироваться и затем выделяется с мочей.

Диннинг и Фитч (Dinning, Fitch, 1958) высказали предположение о том, что понижение содержания креатина в скелетных мышцах и выделение его с мочей при Е-авитаминозе является следствием неспособности мышцы накапливать креатин. Основанием для этого предположения служили опыты с введением меченного C^{14} глицина Е-авитаминозным кроликам и последующим определением количества и удельной активности креатина в печени, скелетных мышцах и сердце и гликоциамина в почках. Было обнаружено увеличение содержания креатина в печени и уменьшение в скелетных мышцах. Количество гликоциамина в почках не было изменено. Скорость обновления креатина в печени и скелетных мышцах, вычисленная из его количества и удельной активности, была повышенной у Е-авитаминозных животных.

Л. Б. Перельман и Э. Ш. Матлина (1957) установили любопытный факт. Сыворотка крови больных миастенией угнетает образование фосфокреатина гомогенатами нормальных мышц. Ингибитор остается активным при кипячении сыворотки и после ее диализа. С улучшением клинического состояния больных, активность ингибитора в сыворотке крови падает.

Следует все же отметить, что, несмотря на многочисленные исследования и обилие фактических данных, вопрос о причинах креатинурии при Е-авитаминозе и прогрессивной мышечной атрофии не может считаться решенным.

Аминоцидурия. В непосредственной связи с увеличением скорости обновления мышечных белков и усилением процессов протеолиза в мышцах, по-видимому, находится и аминоцидурия, обнаруженная рядом авторов при различных формах нервно-мышечной и мышечной патологии.

По данным Блад, Блум и Дрелл (Blahd Bloom, Drell, 1955), исследовавших при помощи хроматографии на бумаге мочу 43 людей, страдающих мышечной дистрофией, и 9 больных дистрофической миотонией, обнаружено возрастание у обеих

групп больных числа выделяемых с мочой аминокислот и некоторых неидентифицированных веществ, возможно пептидов. При мышечной дистрофии наиболее часто обнаруживались метионин-валин, изолейцин-лейцин, метионин-сульфоксидсаркозин, метилгистидин, цистеиновая кислота. В группе больных дистрофической миотонией в моче обнаруживались лизин и метионин сульфоксид-саркозин. Отмечено также возрастание числа аминокислот в моче у матерей детей, больных мышечной дистрофией, в связи с чем авторы поддерживают предположение о наследственном (со стороны матери) нарушении обмена веществ при этом заболевании. Хэрли и Вильямс (Hyrley, Williams, 1955) установили, что при мышечной дистрофии у людей повышается выделение с мочей треонина, валина, лейцина, аргинина и таурина и снижается выделение креатинина и фосфора. Наряду с этим отмечены значительные колебания содержания этих веществ в моче в разные дни у одних и тех же лиц и еще более широкие индивидуальные колебания. Далеко не всегда отмечается параллелизм между степенью аминоцидурии у больных с прогрессивной мышечной дистрофией и тяжестью заболевания, но выявляется зависимость аминоцидурии от локализации патологического процесса в мышцах. Методом хроматографии на бумаге у 20 больных с прогрессивной мышечной дистрофией тазового пояса Шененбергом (Schönenberg, 1955) была обнаружена отчетливая аминоцидурия с интенсивным выделением лизина, гистидина, аргинина и пролина. При прогрессивной мышечной дистрофии плечевого пояса аминоцидурии отмечено не было. Причиной аминоцидурии автор считает нарушение обмена веществ, не связанное с повышением содержания аминокислот в крови или нарушением функции почечных канальцев. Действительно, Торре, Скарцелла и Цанальда (Torre, Scarzella, Zanalda, 1955) не смогли обнаружить сколько-нибудь заметного повышения содержания свободных аминокислот в крови у больных с тяжелой формой миастении, однако у двух больных с врожденной миотонией Томсена было найдено повышенное содержание в крови пролина.

Следует отметить, что аминоцидурия хотя и является частым спутником различных форм мышечной патологии, все же не может в настоящее время считаться надежным диагностическим признаком этих заболеваний.

Ферменты

Резкая мышечная слабость и быстрая утомляемость, наблюдаемая при миопатиях, несомненно связана не только с изменениями химического состава мышечной ткани, но и резкими сдвигами в скорости ферментативных реакций, обеспечивающих энергетику мышечной деятельности. Наиболее подробно изучены изменения активности ферментов гликолиза и гликогенолиза

(В. А. Григорьева, 1951; Д. Л. Фердман, 1953а, 1954, 1957; Дрейфус, Шапира, 1953; Шапира, Жоли, Дрейфус, 1954, 1956; Дрейфус, Шапира, Шапира Демо, 1958; и др.). При Е-авитаминозе у животных в мышечной ткани отмечено снижение активности фосфорилазы, фосфоглюкомутазы и альдолазы. Подобные же сдвиги наблюдаются и в мышцах людей, больных миопатией.

Заслуживает внимания факт, свидетельствующий о том, что при прогрессивной мышечной атрофии у людей и при Е-авитаминозе у животных параллельно с падением активности ряда ферментов гликолиза и гликогенолиза в мышечной ткани увеличивается активность этих ферментов в сыворотке крови. Шапира, Дрейфус и сотрудники, в течение ряда лет изучающие характер биохимических сдвигов при прогрессивной мышечной дистрофии у человека, отмечают, что в противоположность другим заболеваниям, сопровождающимся атрофией мышц, содержание альдолазы в сыворотке крови при первичной мышечной дистрофии резко возрастает у подавляющего большинства больных (у 71 из 76). Авторы считают, что гиперальдолаземия является ценным диагностическим признаком прогрессивной мышечной дистрофии. Кроме того, обнаружено, что содержание (активность) в сыворотке крови фосфогексоизомеразы у обследованных больных было также повышенным, хотя и не в такой степени, как содержание альдолазы. В противоположность этому при атрофии мышц нервного происхождения концентрация фосфогексоизомеразы (так же как и альдолазы) в сыворотке оказалась нормальной.

В самой мышечной ткани больных с мышечной дистрофией гликогенолитическая активность в целом, а также активность альдолазы, фосфогексоизомеразы, фосфоглюкомутазы и фосфорилаз *a* и *b* была по данным авторов заметно снижена.

Этот же вопрос на большем числе клинических случаев (238 больных) изучали Арансон и Волк (Aronson, Volk, 1957). Они также отметили резкое повышение активности альдолазы в сыворотке крови у больных с прогрессивной мышечной дистрофией. Особенно высокое содержание альдолазы (в 6 раз выше нормальной величины) было обнаружено в сыворотке крови детей (4—14 лет) с мышечной дистрофией. С длительностью болезни гиперальдолаземия понижается.

При диффузных сосудистых или дегенеративных поражениях головного мозга содержание альдолазы в сыворотке крови нормально или даже несколько понижено, несмотря на обширную мышечную атрофию. Минимальное повышение активности альдолазы в сыворотке крови обнаружено у больных с дегенерацией клеток передних рогов спинного мозга (amyotonia congenita).

Якоб и Нейхаус (Jacob, Neuhaus, 1954), изучавшие активность сывороточной альдолазы при прогрессивной мышечной дистрофии типа Эрба у 10 больных показали, что активность альдо-

лазы в сыворотке больных в среднем в 4 раза выше нормы. Мышечная дистрофия иного происхождения (невральная форма, миотоническая дистрофия, мышечная атрофия у больных с бульбарным параличем, при сирингомиелии, при полиомиелите, после повреждения периферического нерва, при атрофии мышц в результате общего склероза) не сопровождается повышением активности альдолазы сыворотки крови.

На возможность использования гиперальдолаземии как объективного теста для оценки диагноза, прогноза и эффективности лечения первичных миопатий указывает ряд авторов (Бекман, Будекке — Beckmann, Buddecke, 1956; Уайт, Гесс — White, Hess, 1957; Эванс, Бейкер — Evans, Backer, 1957; и др.). Несмотря на убедительные данные, говорящие об определенной ценности альдолазного теста для диагностики прогрессивной мышечной атрофии, его все же нельзя считать специфическим. Известно, что увеличение активности альдолазы в сыворотке крови наблюдается при многих заболеваниях — раке предстательной железы, лейкемии, гепатите, инфаркте миокарда, микседеме, гемолитической анемии и т. д. Некоторое, но обычно значительно меньшее, чем при прогрессивной мышечной атрофии увеличение альдолазы в крови отмечено и при денервации мускулатуры (Аронсон, Волк, 1957). Механизм диффузии альдолазы из скелетной мышцы в крови изучал Цирлер (Zierler, 1957, 1958). У молодых крыс под наркозом вырезали длинную малоберцовую мышцу, следя за тем, чтобы были перерезаны только сухожилия и не были повреждены мышечные волокна. Мышцу переносили в сосудик Варбурга и инкубировали в различных условиях. По окончании инкубации в мышце и в растворе, в который была погружена мышца, определяли активность альдолазы. Было обнаружено, что альдолаза способна диффундировать из мышц даже при сохранении их целостности. При мышечной дистрофии этот процесс ускоряется.

Как уже было отмечено, при прогрессивной мышечной атрофии в крови повышается активность не только альдолазы, но и ряда других ферментов. По данным Шапира и сотрудников (1958) в крови у миопатов заметно увеличивается активность лактикодегидразы и аминоферазы.

Заслуживают серьезного внимания сведения о резком повышении интенсивности тканевого дыхания и, в частности, дыхания мышечной ткани при Е-авитаминозе, свидетельствующее об усилении активности окислительных ферментов. К сожалению, этот уже давно установленный факт (Виктор — Victor, 1934; Хаучин — Houchine, 1942; Хаучин и Мэттилл — Houchine, Mattill, 1942) не получил до настоящего времени сколько-нибудь удовлетворительного объяснения.

В отличие от Е-авитаминоза у животных, при миопатиях человека, как сообщает Шапира с сотр. (1958), активность окислительных ферментов в мышечной ткани не увеличена. Это

обстоятельство еще раз подчеркивает наличие существенных различий между Е-авитаминозом животных и прогрессивной мышечной атрофией у человека.

Беккет и Бурн (Becket, Bourne, 1957, 1958) обнаружили в мышечной ткани миопатов повышение активности нуклеотидазы и кислой фосфатазы.

Эти данные, несомненно, представляют значительный интерес, поскольку нарастание активности фосфатаз может играть определенную роль в снижении содержания в мышцах макроэргических фосфорных соединений.

Выше упоминалось об увеличении активности протеолитических ферментов в мышечной ткани у Е-авитаминозных животных.

Углеводно-фосфорный обмен

Подробная сводка данных о характере сдвигов в углеводно-фосфорном обмене в мышцах Е-авитаминозных животных и литература по этому вопросу представлены в монографии и статьях Д. Л. Фердмана (1953а, 1954, 1955, 1957). Здесь мы ограничиваемся кратким изложением основных итогов исследований в этой области и рассмотрением отдельных вопросов, не получивших достаточного освещения в цитированной выше литературе.

Уже в раннем периоде развития экспериментальной мышечной дистрофии в мышечной ткани у животных наблюдается снижение содержания гликогена (Рейнгольд, Кингсели — Reinhold, Kingseley, 1938; Хамол, Грисвольд, Мак-Интайр, 1950; и др.). При прогрессирующем развитии восходящей дистрофической миопатии Эрба (от I к V степени проявления дистрофии) параллельно с нарастанием дегенеративных изменений в мышечной ткани также уменьшается содержание гликогена.

Это явление находится в тесной связи с падением активности фосфорилаз (В. А. Григорьева, 1951). Снижение активности фосфорилаз *a* и *b* в мышцах миопатов отмечено Шапира и сотр. (Шапира, Дрейфус, Шапира, Кру—Schapira, Dreufus, Schapira, Kruh, 1955). Гликолитическая активность гомогенатов мышц при Е-авитаминозе у животных и при миопатиях у человека также заметно (в несколько раз) уменьшена.

Окислительные процессы в мышцах Е-авитаминозных животных, как уже было отмечено ранее, значительно повышаются. Заслуживает внимания (В. А. Григорьева, 1951), что интенсивное потребление мышечной тканью кислорода имеет место только в опытах со срезами ткани. В гомогенатах мышечной ткани при добавлении таких субстратов дыхания как янтарная и яблочная кислоты повышения потребления кислорода не наблюдается. Можно предположить, что при гомогенизации ткани разрушаются клеточные структуры (саркосомы, митохондрии), с целостностью которых связана активность ряда окислитель-

ных ферментов. В связи с этим возникает вопрос, не связаны ли результаты опытов Шапира с сотр., которые наблюдали понижение величины окислительных процессов в мышечной ткани миопатов, с примененным ими способом получения мышечных гомогенатов. Авторы этого исследования получали мышечные гомогенаты замораживанием и растиранием ткани в жидком азоте и последующей гомогенизацией полученного порошка в гомогенизаторе Поттера.

Значительные изменения наблюдаются также в содержании и обмене фосфорных соединений. В мышцах Е-авитаминозных кроликов и крыс заметно уменьшается содержание фосфокреатина, аденозинтрифосфата и аденозиндифосфата (В. А. Григорьева, 1951; И. А. Шабанова, 1953; Д. Л. Фердман, 1953а, 1954). Исследования интенсивности обновления фосфорных соединений в мышцах животных с экспериментальной мышечной дистрофией с применением радиоактивного фосфора показали что удельная активность кислоторастворимого фосфора и АТФ при Е-авитаминозе примерно в 3 раза, а неорганического фосфора и креатинфосфата примерно в 4 раза выше, чем у нормальных животных (Д. Л. Фердман, В. А. Григорьева, 1952).

Интересно отметить, что повышение скорости обновления фосфорных соединений было констатировано как в ранней, так и в поздней стадии развития Е-авитаминоза у подопытных животных.

Уменьшение содержания АТФ и креатинфосфата при Е-авитаминозе у животных было обнаружено также и в сердечной мышце.

Скорость обновления фосфорных соединений в мышце сердца при мышечной дистрофии у кроликов в отличие от скелетной мускулатуры не изменяется (Д. Л. Фердман, 1957).

Значительное уменьшение содержания фосфорных соединений в скелетных мышцах при Е-авитаминозе, сопровождающееся падением работоспособности мускулатуры и одновременное усиление потребления кислорода, явилось в свое время основанием для высказывания предположения о разобщении процессов дыхания и фосфолирования и, следовательно, невозможности в этих условиях использования мышцей энергии окисления (Хаммель — Hammel, 1948, и др.).

Результаты исследований Д. Л. Фердмана и сотрудников и, в частности, приведенные выше данные об увеличении скорости обновления фосфорных соединений в мышцах при недостаточности витамина Е не подтверждают это предположение.

Пентозурия. Определенный интерес представляет вопрос о наличии пентозурии при прогрессивной мышечной дистрофии. Обстоятельное исследование в этой области было проведено Тауэром Питерсом и Погорельскиным (Tover, Peters u. Pogorelskin, 1956).

Обследовано содержание альдопентоз в суточной моче у 55 человек с мышечными заболеваниями и у здоровых людей.

Содержание пентоз в моче больных-миопатов было значительно более высоким.

При гидролизе мочи повышение содержания свободных альдопентоз не было отмечено. Хроматографией на бумаге в моче обнаружено 8 углеводных соединений.

Большая часть образцов мочи содержала глюкозу, ксилозу, арабинозу и рибозу. Кроме того, были идентифицированы также лактоза, галактоза, дезоксирибоза и уронид (возможно глюкуроновой кислоты). Кетоз не было найдено. В моче больных миопатией преобладает рибоза, у лиц без миопатий — арабиноза.

Разницы в содержании ксилозы в моче этих двух групп людей обнаружено не было. Отмечена четкая корреляция количества выделяемых с мочой пентоз у больных с миопатией с весом остаточной функционирующей массы мышц, определяемой количеством обменивающегося K на 1 кг веса тела. При уменьшении остаточной мышечной массы выделение пентоз с мочей падает.

Следует отметить, что данные о наличии пентозурии при прогрессивной мышечной атрофии не являются однородными. Перков и Тайлер (Perkoff, Tyler, 1956) не обнаружили существенного различия в содержании рибозы в моче больных прогрессивной мышечной дистрофией и здоровых людей.

Вопрос об аномалии обмена пентоз при мышечных дистрофиях привлекает в настоящее время внимание многих исследователей (Вернер, Бьёрнеше — Werner, Björnesijö, 1956; и др.). Можно было бы предполагать о связи этого явления с изменением характера обмена углеводов, в частности, об усилении окислительного пути распада углеводов, однако достаточно убедительными фактами в пользу такого предположения в настоящее время мы не располагаем.

Минеральный обмен

Нарушение нервно-мышечной передачи при миопатиях ряд авторов связывает с изменениями обмена калия. Анализ кусочков мышечной ткани, полученной путем биопсии у больных мышечной дистрофией, показал снижение содержания в мышцах общей и внутриклеточной воды, повышение содержания внутриклеточного Na и снижение содержания внутриклеточного K (Харват, Берг, Каммингс Шай — Harvath, Berg, Cummings, Shy, 1955). Этими же авторами путем введения больным с мышечной дистрофией K^{42} и последующего определения его содержания в моче и в мышцах было обнаружено, что скорость обновления K в дистрофических мышцах не отличается от нормы.

Обновление же К в целом организме, как это ни странно, у больных значительно снижено (Шай, Каммингс, Берг и Харват — Shy, Cummings, Berg Harvath, 1955).

Десмедт (Desmedt, 1955) на основании результатов электрофизиологических исследований при миастении высказывает предположение, что положительный терапевтический эффект при введении солей К в кровь обусловлен именно улучшением нервно-мышечной передачи.

Эрбсле (Erbslöh, 1955) также отмечает, что при прогрессирующем развитии восходящей дистрофической миопатии Эрба (от I к V степени проявления дистрофии) параллельно нарастанию дегенеративных изменений в мышечной ткани происходит уменьшение содержания воды (до $^1/_3$ нормы), фосфора и К. Близкие результаты были получены и при исследовании мышц Е-авитаминозных животных.

По данным Бачигалупо и Льюк (Bacigalupo Luecke, 1954), у ягнят при отсутствии в диете витамина Е в скелетных мышцах повышается концентрация Са и Na и уменьшается концентрация К по сравнению с содержанием этих веществ в мышцах контрольных животных.

На некоторые особенности обмена железа у миопатов указывают Индовина и Паттавина (Indovina, Pattavina, 1953). Авторы с помощью биопсии изучали распределение Fe^{59} в ферропротеидах у больных прогрессивной мышечной дистрофией и здоровых людей. Радиоактивность сыворотки при миопатии исчезала медленнее, чем в нормальном состоянии. В отношении радиоактивности гемоглобина и цитохрома существенных различий, в связи с большими колебаниями скорости синтеза этих соединений внутри каждой обследованной группы людей, обнаружено не было. Фиксация Fe^{59} миоглобином протекает значительно быстрее у больных, чем у здоровых. В негеминном железе мышц у больных изотоп Fe^{59} отсутствовал. Усиление фиксации железа мышцами при внутривенном введении препаратов железа наблюдалось и другими авторами (Пальмери Джакка — Palmeri, Giacca, 1957). Общее содержание железа в мышцах миопатов, однако, ниже, чем в мышцах здоровых людей (Шапира и сотр., 1958). Увеличение скорости обновления железа миоглобина, возможно, имеет тесную связь с ранее упомянутыми фактами, свидетельствующими об усилении дыхания в дистрофированных мышцах.

Следует отметить, что биохимические сдвиги при различных формах миопатий, а также при экспериментальном Е-авитаминозе отнюдь не ограничиваются одной мышечной тканью или нервномышечным аппаратом.

Многочисленные данные указывают на нарушение биохимических процессов в самых различных органах и тканях, что приводит, в свою очередь, к обменным нарушениям во всем организме.

ГЛАВА XI

ПОЛИОМИЕЛИТ И НЕКОТОРЫЕ ДРУГИЕ ФОРМЫ МЫШЕЧНОЙ ПАТОЛОГИИ

Несмотря на весьма большие успехи, достигнутые в течение последних лет, как в СССР, так и за границей (США) в области профилактики заболеваний полиомиелитом, борьба с этой тяжелой болезнью все еще представляет нелегкую задачу. Трудность распознавания атипических форм полиомиелита, наряду с тяжелыми последствиями болезни, заставляет эпидемиологов и клиницистов и в настоящее время весьма внимательно отнестись к этому коварному нейровирусному заболеванию. Стойкие деформации тела, нарушение функции движения, возникающие как следствие атрофических параличей, становятся нередкой причиной тяжелой инвалидности детей. Борьба с полиомиелитом и его последствиями все еще представляет большие трудности и далеко не всегда оканчивается успешно. Совершенно очевидно что недостаточная эффективность терапии, неопределенность прогноза в известной степени объясняются неполнотой наших знаний патогенеза этого заболевания и, в частности, характера физиологических и биохимических сдвигов.

Для полиомиелита, как указывает само название этого заболевания, наиболее типичной (но далеко не единственной) формой является воспаление серого вещества передних рогов спинного мозга. В этом случае обычно наблюдаются дегенеративные изменения двигательных клеток передних рогов, передних корешков и соответствующих периферических нервов. Поврежденными оказываются только двигательные волокна. Кроме типичной спинальной формы имеется ряд других форм, при которых локализация патологического процесса происходит в других отделах нервной системы. Помимо поражения элементов собственно нервной ткани наблюдаются выраженные патологические изменения в различных органах и тканях.

Основной причиной нарушения функционального состояния мышц при полиомиелите является их денервация. В результате денервации происходит атрофия мышечных волокон, отмечаются дегенеративные изменения мышечной ткани и замещение мышечных элементов соединительной тканью. Кроме того, в мышцах нередко возникают и другие нарушения, имеющие характер вторичных. Упомянутые выше изменения мышц и других органов и тканей, разумеется, возникают не одномоментно и не в одинаковой степени в различные стадии заболевания. Следует также отметить, что нарушение функционального состояния двигательного аппарата сопровождается не только поражением мышц, но и костного скелета, связок, сухожилий, суставов и пр.

Таким образом, морфологические и функциональные изменения мышц при полиомиелите имеют гораздо более сложный генез

по сравнению с такими формами патологии, как экспериментальная денервация, осуществляемая путем перерезки нервного ствола, тенотомия и др.

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ ПОЛИОМИЕЛИТЕ

Белки мышц и азотистый обмен

И. И. Ивановым, В. А. Юрьевым, Д. А. Новожиловым, Л. А. Михайловской и Б. М. Крымской (1959) — см. также Л. А. Михайловская, Д. А. Новожилов и И. И. Иванов (1958) — было проведено изучение фракционного состава мышечных белков при последствиях полиомиелита и на основании сопоставления этих данных с клиникой заболевания сделана попытка подойти к биохимической оценке функционального состояния пораженных мышц.

Наблюдения проводились над 27 детьми, находившимися на стационарном лечении по поводу остаточных явлений полиомиелита. Возраст обследованных больных от 9 до 18 лет. Давность заболевания колебалась от 4 до 15 лет. Большинство больных имело глубокие костно-мышечные изменения преимущественно в области нижних конечностей. У больных проводилась клиническая (по пятибальной системе) и электрофизиологическая оценка функционального состояния пораженных мышц.

При исследовании электровозбудимости, как известно, применяется как фарадический, так и гальванический ток. Определение прямой возбудимости мышц осуществляется непосредственным приложением к ней электрода, возбудимость мышцы с нерва — приложением электрода к нерву. Обычно определяются порог возбудимости и характер мышечных сокращений. При простых формах мышечной атрофии, т. е. формах, не зависящих от повреждения периферического неврона, наблюдается количественное снижение фарадической и гальванической возбудимости. При дегенеративных атрофиях, наступающих в результате поражения периферического неврона, нерв теряет возбудимость при раздражении его как фарадическим, так и гальваническим током. Мышца также не возбудима на фарадический ток. Гальванический ток вызывает в этом случае не быстрое, как у нормальной мышцы, а медленное червеобразное сокращение, что является важным признаком перерождения. Для оценки состояния мышцы большое значение имеет также характер реакции мышцы в ответ на замыкание анодного или катодного полюса. В нормальных условиях замыкание катода вызывает сокращение мышцы при меньшей силе тока, чем при замыкании анода. При реакции перерождения эти отношения меняются, или же анодзамыкательное сокращение делается равным катодзамыкательному сокращению.

Существенное диагностическое и прогностическое значение имеет метод хронаксиметрии. Как известно, главнейшими характеристиками, определяющими электровозбудимость нервномышечного аппарата, являются сила тока (в mA) и время, необходимое для вызывания сокращения, обычно измеряемое в сигмах.

Минимальная сила гальванического тока, необходимая для вызывания порогового сокращения, носит название реобазы. Под хронаксией понимается минимальное время прохождения тока с силой, равной удвоенной реобазе вызывающее сокращение. При заболеваниях периферического нервномышечного аппарата динамическое изучение этих двух величин дает весьма ценные данные для оценки его функционального состояния.

В исследованиях И. И. Иванова, В. А. Юрьева, Д. А. Новожилова и др. (1959) непосредственными объектами биохимического, а в ряде случаев и одновременного гистологического исследования являлись кусочки мышц, полученные при оперативном вмешательстве у детей с последствиями полиомиелита. Изучение мышечной ткани шло по различным направлениям.

Были проведены наблюдения над сократительной способностью вымоченных мышечных волокон и актомиозиновых нитей, определена экстрагируемость белков мышечной ткани растворами солей, с помощью электрофореза на бумаге выявлены особенности фракционного состава этих белковых экстрактов.

Опыты с вымоченными мышечными волокнами. Из различных участков кусочка мышцы выделялось до 20 мышечных волокон и после вымачивания в дистиллированной воде определялась их способность к укорочению при добавлении АТФ в присутствии KCl и $MgCl_2$. Степень укорочения выражалась в процентах по отношению к первоначальной длине волокна Как известно, вымоченные волокна нормальной поперечнополосатой мышцы, так же как и актомиозиновые нити, укорачиваются в присутствии АТФ на 50—70%. Внешний вид волокон пораженных мышц заметно отличался от нормальных: они были более тонкими, неровными и с большим трудом отделялись от остальных. Иногда вообще не представлялось возможным изолировать отдельные волокна и наблюдения были проведены над пучками, состоящими из трех-пяти спаянных друг с другом волокон. В большинстве случаев отмечалось заметное снижение способности вымоченных мышечных волокон к укорочению в присутствии АТФ. Необходимо подчеркнуть, что степень укорочения различных волокон, полученных из одного и того же кусочка мышечной ткани была не одинаковой. Наряду с отдельными мышечными волокнами, сокращающимися на 50—60%, т. е. мало отличающимися от нормальных, имелись волокна, сокращающиеся на 10—25%, и волокна, полностью потерявшие эту способность. Между средней величиной укорочения мышечных волокон и функциональным состоянием пораженной мышцы наблюдался известный параллелизм.

Опыты с актомиозиновыми нитями. Для получения актомиозиновых нитей использовались растворы мышечных белков, извлекаемых солевыми растворами с высокой ионной силой. Такие экстракты, полученные из нормальных поперечнополосатых мышц животных и человека при выдувании их через капилляр в воду или раствор Сент-Дьердьи образуют четко отграниченные и хорошо сокращающиеся при добавлении раствора АТФ белковые нити. Из экстрактов мышц больных с последствиями полиомиелита, т. е. парализованных и в значительной степени атрофичных мышц, не удавалось получать подобных нитей, что указывало на низкое содержание в растворе актомиозина. Вместо отграниченных нитей обычно образовывалось белковое

«облачко», которое при добавлении АТФ в большей или меньшей степени уплотнялось. Интенсивность синерезиса актомиозинового геля была наиболее выраженной в экстрактах из тех мышц, в которых обнаруживалось максимальное количество волокон, способных к значительному укорочению под влиянием АТФ. Наличие параллелизма между интенсивностью синерезиса и способностью мышечных волокон к укорочению совершенно закономерно, поскольку оба этих явления обусловлены наличием контрактильных мышечных белков.

Экстрагируемость белков мышечной ткани. По данным И. И. Иванова, В. А. Юрьева и др., общий азот нормальной поперечнополосатой мышцы человека составляет около 30 мг в 1 грамме ткани с колебаниями от 25 до 35 мг. Примерно такое же содержание общего азота и в мышцах ряда других млекопитающих. В пересчете на белок это составляет несколько менее 20% от веса мышцы. В суточном экстракте раствором Вебера (раствор солей с высокой ионной силой) при однократной экстракции обнаруживается около 50% всего азота мышечной ткани. Общий азот парализованных мышц у детей с последствиями полиомиелита несколько снижен, видимо, в результате замещения части мышечной ткани жировой. Содержание азота в экстрактах солевыми растворами с высокой ионной силой (раствором Вебера) резко снижено и максимально составляет 30—40% общего азота мышечной ткани, чаще же — 15—20%. Эти данные, так же как и результаты исследования сократительной способности вымоченных мышечных волокон и интенсивности синерезиса актомиозинового геля, свидетельствуют о резком уменьшении количества экстрагируемых белков и в особенности белков актомиозинового комплекса. Отмеченную ранее закономерность можно обнаружить и в этих опытах. Чем хуже функциональное состояние мышц, тем меньше, как правило, содержание азота в солевых экстрактах этих мышц. (Следует напомнить, что солевыми растворами с высокой ионной силой экстрагируются именно белки АМ комплекса).

АТФ — азная активность этих экстрактов при паралитической форме полиомиелита, по нашим данным, обычно была значительно ниже, чем в нормальных мышцах.

Электрофорез мышечных белков на бумаге. При электрофорезе мышечных белков, полученных путем длительной экстракции солевыми растворами с высокой ионной силой, как известно, выявляются две основные фракции «миогеновая» *(M)* и «актомиозиновая» (α) и намечается третий тип «миоальбуминовый» (*h*), соответствующий наиболее подвижной белковой фракции. Характер электрофореграмм мышечных белков на бумаге имеет свои особенности и несколько отличается от электрофоретической картины, получаемой при помощи свободного электрофореза. При свободном электрофорезе фракции миозина и актомиозина обладают большей подвижностью в электрическом поле

(pH>7 и ионная сила 0,35—0,5), чем миогеновая фракция. В отличие от этого при электрофорезе на бумаге актомиозиновая фракция, вследствие взаимодействия с бумагой, остается на линии нанесения. Хорошо растворимые мышечные белки миогеновой фракции и миоальбуминовой имеют одинаковую последовательность расположения на электрофотограммах, полученных как при помощи свободного, так и бумажного электрофореза. Этот вопрос подробнее изложен в методическом разделе книги. При электрофорезе экстрактов из поперечнополосатых мышц взрослого животного и человека «миоальбуминовый» пик обычно имеет очень незначительную величину или же вообще не выявляется (рис. 16 *а*).

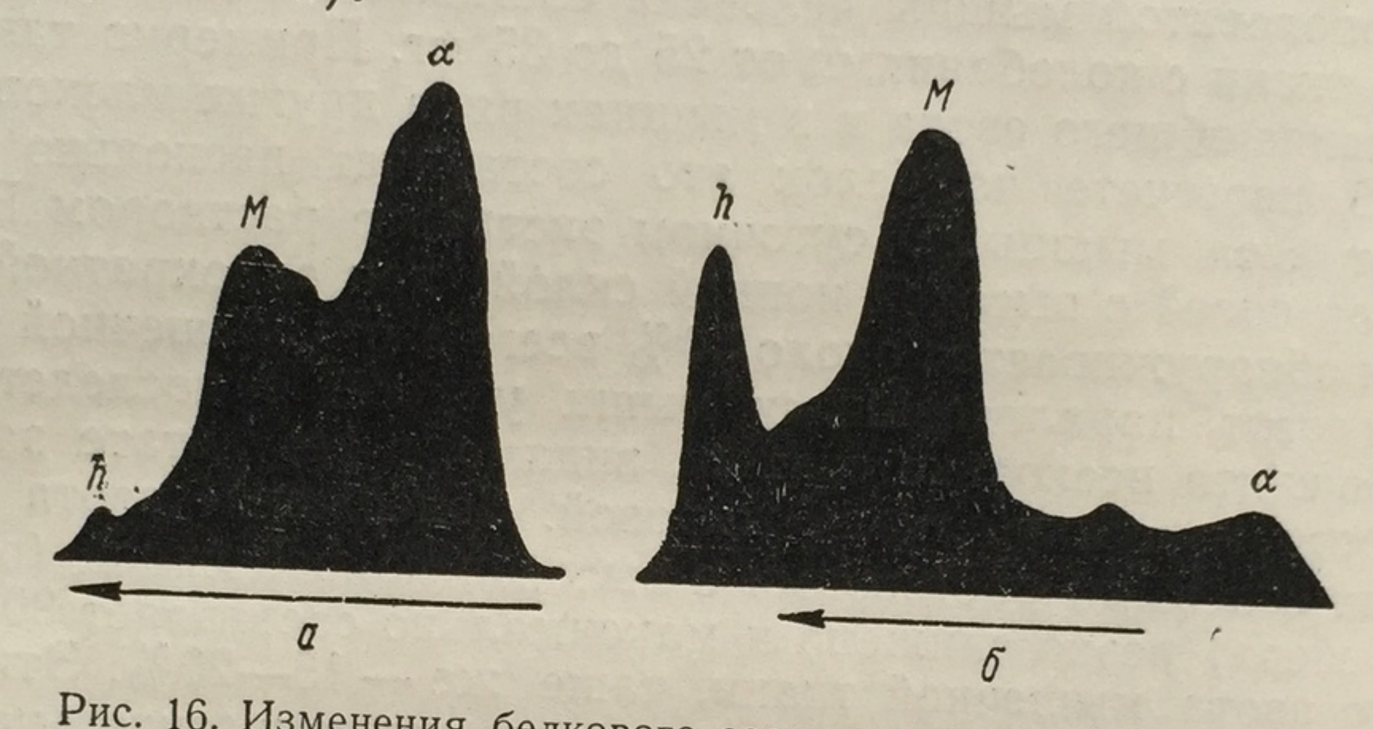


Рис. 16. Изменения белкового состава мышечной ткани при полиомиелите (по И. И. Иванову, В. А. Юрьеву и др.). Электрофореграммы мышечных белков, извлекаемых раствором Вебера.

а — нормальная мышца; *б* — парализованная мышца с выраженными атрофическими изменениями. *h* — миоальбумин; *M* — миоген; *α* — актомиозин

На электрофореграммах экстрактов с высокой ионной силой, полученных из мышц детей с остаточными явлениями полиомиелита, наблюдаются существенные изменения фракционного состава по сравнению с нормальными мышцами.

Обращает на себя внимание резкое уменьшение содержания белков актомиозинового комплекса и одновременное относительное увеличение содержания миогеновой и, особенно, миоальбуминовой фракции (рис. 16 *б*).

Степень описанных изменений фракционного состава мышечных экстрактов, как правило, тем выраженнее, чем хуже функциональное состояние пораженной мышцы, определяемое клиническими и электрофизиологическими тестами. Между электрофоретической картиной и сократительной способностью вымоченных мышечных волокон, а также степенью синерезиса актомиозинового геля под влиянием АТФ наблюдается четкий параллелизм.

В хорошем соответствии с биохимическими данными находятся и результаты морфологических исследований пораженных

мышц. Ниже приводится несколько случаев сопоставления клинических, морфологических и биохимических данных.

Таня Г., 1940 г. рождения, поступила в Институт им. Г. И. Турнера 28/I 56 г. по поводу остаточных явлений полиомиелита — полный паралич обеих ног. Genu valgum bilateralis. Парез мышц правой руки. Девочка передвигалась ползая на коленях. Давность заболевания 14 лет. 11/III 57 г. операция — надмыщелковая остеотомия правого бедра.

Клиническая оценка функционального состояния мышц равна 0. Реобаза и хронаксия не определяются. При гистологическом исследовании боковой широкой мышцы бедра, проведенном параллельно с биохимическим, обнаружена следующая картина[1].

Среди неоформленной рыхлой соединительной ткани видны малочисленные резко измененные мышечные волокна. Меньшая часть волокон имеет обычную толщину 25—35 μ, но поперечная исчерченность в них отсутствует. Значительная часть мышечных волокон резко истончена, поперечник их не превышает 5—6 μ, но большей частью видны лишь тяжи мышечных ядер, окруженные узким ободком саркоплазмы. Мышечные ядра, как правило, мало изменены, лишь некоторые из них находятся в состоянии пикноза. Местами между атрофирующимися волокнами видны жировые клетки.

Заключение. Резковыраженная атрофия мышечных волокон с замещением их соединительной и, в меньшей степени, жировой тканью. Нерезко выраженные дистрофические изменения оставшейся части мышечных волокон.

Количество белков экстрагируемых мышц этого ребенка солевыми растворами с высокой ионной силой очень невелико и составляет около 15% нормальной величины. Основная масса белков пораженной мышцы, представленная белками соединительнотканных элементов, не извлекается при этих условиях. Электрофоретическая картина значительно отличается от нормальной. Обращает на себя внимание резкое уменьшение относительного содержания актомиозиновой фракции и столь же резкое увеличение фракции миоальбумина.

Григорий Ш., 1947 г. рождения, поступил в Институт им. Г. И. Турнера 25/X 56 г. по поводу остаточных явлений полиомиелита (s-образный паралитический сколиоз 2—3-й степени). Полный паралич мышц правой ноги, парез мышц левой ноги. Поступил для операции — фиксации позвоночника. Клиническая оценка функционального состояния мышц 3—, хронаксия 0,68, реобаза 90. Данные гистологического исследования: Большая часть мышечных волокон толщиною 25—30 μ, поперечная исчерченность их различима не всюду достаточно отчетливо. В значительной части волокон четко видны миофибриллы. Небольшая часть мышечных волокон, преимущественно расположенная вблизи сухожильной прослойки, резко утолщена до 60—70 μ, гомогенизирована с пикнотированными ядрами. Местами виден распад мышечных волокон на отдельные утолщенные фрагменты с гомогенизацией или зернистым распадом и пикнозом ядер утолщенных участков, между которыми видны лишь перемычки из саркоплазмы.

Заключение. Выраженные дистрофические изменения части мышечных волокон, утолщение, гомогенизация волокон, пикноз ядер, распад измененных мышечных волокон на отдельные фрагменты.

Количество белков, экстрагируемых солевыми растворами из пораженных мышц этого ребенка, почти в три раза выше, чем у первого, но все же еще значительно ниже нормальной величины. Характер электрофоретических изменений остается таким же, как и в предыдущем случае, но степень выраженности этих изменений гораздо меньше.

Тамара Т., 1946 г. рождения, поступила в Институт им. Г. И. Турнера 25/X 56 г. по поводу остаточных явлений рахита и атипичной хондродистрофии (двусторонняя Coxa vara варусная и саблевидная деформация обеих бедер и голени, варусная деформация правого коленного сустава). 12/XII 56 г.

---

[1] Гистологические исследования проведены в патогистологической лаборатории института им. Г. И. Турнера (зав. лабораторией канд. мед. наук Е. Н. Ерошевская).

операция — остеотомия левого бедра. Клиническая оценка функционального состояния мышц — 5. Данные гистологического исследования мышц следующие: Мышечные волокна толщиной 20—25 μ. Поперечная исчерченность видна отчетливо. На протяжении единичных волокон встречаются немногочисленные колбообразные утолщения с гомогенизацией, утолщенных участков и пикнозом ядер в них. Единичные волокна резко извиты, единичные фрагменты ровные.

Заключение: слабовыраженные дистрофические изменения части мышечных волокон. В солевых экстрактах из мышц ребенка Тамары Т. обнаружена и наиболее высокая концентрация белков. Электрофореграмма мышечных белков мало отличается от нормальной.

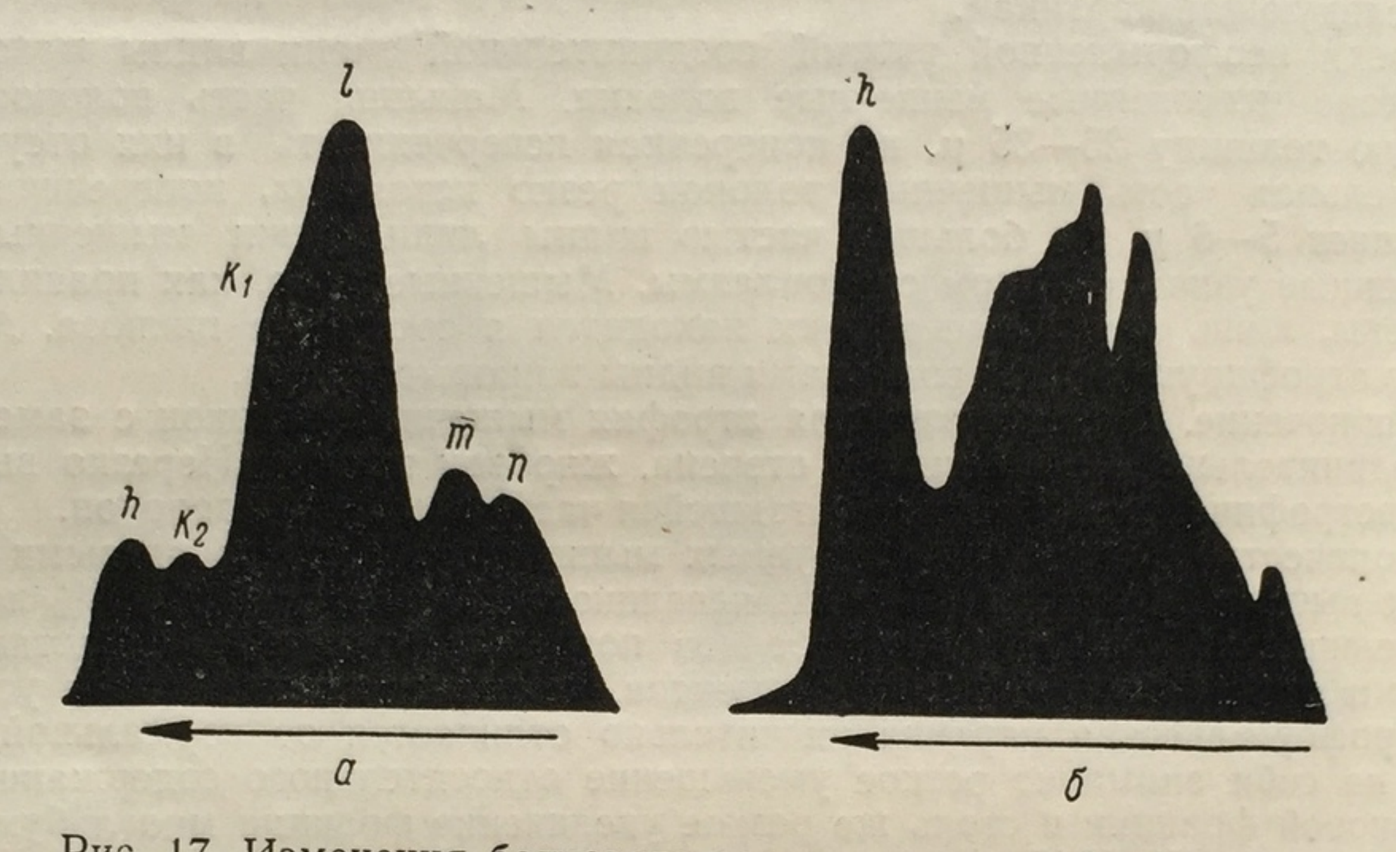


Рис. 17. Изменения белкового состава мышечной ткани при полиомиелите (по И. И. Иванову, В. А. Юрьеву и др., 1959). Электрофореграммы мышечных белков, извлекаемых солевыми растворами с низкой ионной силой.

а — нормальная мышца; *б* — парализованная мышца с выраженными атрофическими изменениями. Объяснения в тексте.

Хорошо растворимые мышечные белки, представленные главным образом миогеновой и миоальбуминовой фракциями, извлекаются солевыми растворами с низкой ионной силой.

Миогеновая фракция, являясь гетерогенной, представляет смесь белков и в том числе различных ферментов (см. гл. V, стр. 82). При электрофорезе белковых экстрактов с низкой ионной силой, полученных из мышц больных с последствиями полиомиелита, мы также обнаружили заметные изменения фракционного состава и уменьшение общего количества этих белков.

Очень четко выявляется относительное увеличение содержания миоальбумина и изменение соотношения белков миогеновой фракции (рис. 17).

Изложенные выше данные говорят о наличии в большинстве случаев вполне четкого соответствия клинико-физиологических, морфологических и биохимических изменений в пораженных мышцах. Следует, однако, отметить, что такое соответствие не всегда является полным. Более того, в отдельных случаях био-

химическая оценка сократительной способности пораженных мышц была значительно выше клинико-физиологической оценки. Биохимические тесты позволяли утверждать наличие вполне сохранившейся способности мышцы к сократительной реакции под влиянием АТФ, в то время как клинические и электрофизиологические данные указывали на полное отсутствие способности к сокращению. Наряду с этим необходимо подчеркнуть, что в исследованиях И. И. Иванова, В. А. Юрьева, Д. А. Новожилова и др. не имелось ни одного случая, когда положительная клиническая и электрофизиологическая оценка не подтверждалась бы биохимическими исследованиями мышечных белков. Примеры известного несоответствия данных электровозбудимости действительному функциональному состоянию мышц отмечают и клиницисты. «Даже при полной реакции перерождения[1] возможно частичное, или даже полное, восстановление через очень продолжительное время»,— отмечает И. М. Присман (1953).

Возникает естественный вопрос, в какой мере описанные сдвиги в белковом составе могут иметь значение для оценки функционального состояния мышц и в какой мере эти сдвиги являются специфичными для полиомиелита. Ответ на эти вопросы, вероятно, можно дать только в самой общей форме: чем слабее выражены биохимические сдвиги в контрактильных белках, тем выше потенциальные возможности данной мышцы к восстановлению нормальной функции. Однако здесь же нужно подчеркнуть, что реализация этой возможности, прежде всего, зависит от восстановления нервно-мышечной связи. Что же касается специфичности обнаруженных изменений в мышцах для полиомиелита, то на этот вопрос следует ответить отрицательно. Аналогичные или же близкие по своему характеру изменения можно обнаружить и при других формах мышечной патологии, сопровождающихся атрофией мышечной ткани.

Тем не менее биохимическая оценка функционального состояния мышц, являясь весьма тонкой и объективной, может иметь, как нам кажется, большое значение в хирургической практике при решении спорных вопросов о показаниях к таким оперативным вмешательствам, как пересадка мышц, сухожилий и т. д. Разумеется, этот вопрос нуждается в дальнейших углубленных исследованиях и всесторонней клинической проверке.

Отмечен параллелизм между степенью мышечной атрофии, уменьшением веса тела, отрицательным азотистым балансом и интенсивностью креатинурии (Уидон и Шорр — Whedon a. Shorr, 1957).

---

[1] Имеется в виду состояние, характеризующее изменение электровозбудимости мышечной ткани.

Было обнаружено, что наибольшая потеря азота у больных наблюдается через 16 дней после заболевания полиомиелитом и продолжается 2—5 месяцев. Средняя продолжительность отрицательного азотистого баланса 103 дня. Средняя общая потеря азота у 4 обследованных больных составила 304,7 г. В течение первой недели болезни развивалась креатинурия, достигшая максимума в течение третьей недели. В последующий период креатинурия снижалась и держалась в среднем на высоте 0,44 г в день.

Углеводно-фосфорный обмен

Систематических исследований углеводно-фосфорного обмена в мышцах при полиомиелите не описано. Поскольку при этом заболевании нарушена двигательная иннервация, определенный интерес представляет изучение биохимических нарушений в мышцах после выключения моторной иннервации путем перерезки передних спинномозговых корешков. По данным Л. В. Сложеникиной (1957), эта операция вызывает ряд выраженных изменений в соответствующих мышцах. При выключении моторных волокон седалищного нерва довольно быстро наступают атрофические изменения в икроножной мышце. Через 14—15 дней после операции мышца теряет около $^1/_3$ своего веса, через 2 месяца потеря веса достигает 63%. Наблюдающиеся биохимические сдвиги по своему характеру в общем очень близки тем, которые имеют место при перерезке смешанного ствола седалищного нерва. При использовании в качестве объектов исследования мышечной кашицы, полученной из пораженных мышц, было обнаружено глубокое нарушение гликогенолиза. В анаэробных условиях в присутствии гликолитических ядов — фтористого натрия или монойодацетата — связывания неорганического фосфора практически не имело места. Отчасти это можно было объяснить низким содержанием гликогена в атрофичной мышечной ткани. Действительно, при добавлении гликогена к мышечной кашице в тех же условиях отмечалось связывание неорганического фосфора, однако интенсивность фосфорилирования была значительно ниже (примерно в два раза) по сравнению с контролем. Не было отмечено существенных нарушений течения реакции гликолитической оксиредукции и изменения активности альдолазы, а также фосфогексоизомеразы и фосфофруктокиназы.

При изучении дыхательного фосфорилирования деэфферентированных мышц было также обнаружено уменьшение образования лабильного фосфора по сравнению с нормальными мышцами. Главнейшими причинами этого являлись повышение аденозинтрифосфатазной активности и нарушение синтеза аденозинтрифосфорной кислоты при гликогенолизе и частично при окислительном фосфорилировании. Известную роль в этом, по мнению автора, играет также недостаток субстратов гликолиза

и, возможно, окислительного фосфорилирования. Исследование реакции переноса макроэргического фосфора с АТФ на креатин не обнаружило каких-либо нарушений в активности креатинфосфоферазы.

Специальное изучение вопроса о том, не являются ли нарушения, наблюдаемые в мышцах при деэфферентации следствием нарушения сопряженности между дыханием и фосфорилированием, показали, что этот процесс снижен лишь в незначительной степени (С. Е. Северин, 1957).

Другие биохимические изменения при полиомиелите

О характере биохимических сдвигов при полиомиелите в самой мышечной ткани известно очень мало, что в значительной степени связано с трудностями изучения этой формы патологии в эксперименте. Отмечены изменения состава крови и спинномозговой жидкости при полиомиелите, а также изменения активности ряда ферментов в органах животных и погибших от этого заболевания детей. Большой интерес проявлен к изучению влияния витаминов на резистентность животных и человека к заболеванию полиомиелитом. В известной мере этот интерес объясняется наличием представления об участии ряда витаминов в регуляции обмена медиаторов, обеспечивающих нервно-мышечную связь. В ряде исследований отмечена четкая зависимость между активностью холинэстеразы и содержанием некоторых витаминов. Так, по данным Саваниси, Savanisi (1953), активность холинэстеразы в спинномозговой жидкости больных полиомиелитом резко возрастает при добавлении к ней витамина B_1. В другом его сообщении отмечается активация действия ацетилхолина на перистальтику тонкой кишки крысы при добавлении витамина B_1 и еще большую активацию при одновременном добавлении витаминов B_1 и С.

Изучая активность холинэстеразы при полиомиелите, Адахи (Adachi, 1953) обнаружил значительное ее повышение в спинномозговой жидкости, а также в спинном и головном мозгу, печени и почках. Ватараи Окавати, Коока, Миякэ, Кинугаса (Vatarai, Okavati, Kooka, Miyake, Kinugasa, 1953) определяли содержание витаминов B_1, B_2 и С и активность холинэстеразы во внутренних органах обезьян экспериментально зараженных полиомиелитом. Часть подопытных животных подвергались лечению в форме спинальных введений глутамилхолина и подкожных инъекций витамина B_1. У нелеченных животных содержание витамина B_1 и B_2 было снижено во всех органах. В спинном мозгу, легких, селезенке и мышцах снижено было также и содержание витамина С. Активность холинэстеразы во всех органах была значительно повышенной. При лечении содержание витаминов и активность холинэстеразы приближались к нормальным величинам. Снижение содержания витамина B_1 во

внутренних органах и парализованных мышцах экспериментально зараженных полиомиелитом мышей отмечали Токумару, Кондо, Сиги, Кубояма (Tokumaru, Kondo, Sigi, Kuboyama, 1953) и др.

Лечению полиомиелита путем введения глутамилхолина и витамина B_1 посвящены исследования Китаока, Миура, Хори (Kitaoka, Miura, Hori, 1953), а также Мотидзуки, Окоти, Кодзима (Motidsuki, Okoti, Kojima, 1956).

Нарушение обмена пировиноградной кислоты при полиомиелите, констатируемое рядом авторов, вероятно также находится в связи с недостатком в организме витамина B_1. Кодзима (1955), изучая обмен пировиноградной и глутаминовой кислот при полиомиелите, обнаружил увеличение содержания пировиноградной кислоты в спинномозговой жидкости и крови больных детей. Повышение содержания пировиноградной кислоты при одновременном уменьшении количества глюкозы и глутаминовой кислоты в спинномозговой жидкости было также найдено у мышей с экспериментальным полиомиелитом. Читре, Агаше (Chitre, Agashe, 1956) изучали влияние сыворотки крови нормальных и инфицированных вирусом полиомиелита макак-резус на способность сыворотки крови здоровых людей окислять пировиноградную кислоту. Было показано, что сыворотка инфицированных животных подавляет этот процесс. Этот факт, по мнению авторов, свидетельствует о появлении в сыворотке крови больных животных фактора или факторов, нарушающих обмен тиамина. Отмечено изменение активности тканевых ферментов. Так, Ковач (Kovacs, 1956) обнаружил глубокие изменения в активности кислой и щелочной фосфатаз в инфицированных почечных клетках обезьян резус. По данным этого автора активность кислой фосфатазы в инфицированной культуре возрастает на 3-й день и затем вновь падает; а активность щелочной фосфатазы постепенно падает к 6-му дню, но на 7-й день резко повышалась.

Изучалось также влияние половых гормонов и ряда эндокринных препаратов на сопротивляемость животных к полиомиелиту и на тяжесть заболевания. Полученные результаты противоречивы (Шультц — Schultz, 1941; Фоли, Айкокк — Foley, Aycock, 1945; Хольтман — Holtman, 1946; Корли, Айкокк — Curley, Aycock, 1947; Уидон, Шорр, 1957; и др.).

В последние годы описаны случаи благоприятного лечения полиомиелита введением массивных доз витамина B_{12} или витамина B_{12} в комбинации с кортином. Не оказывая влияния на вирус полиомиелита и на защитные свойства организма по отношению к вирусу, витамин B_{12} по данным авторов снижает трофические расстройства, зависящие от нарушения функции симпатической нервной системы, и способствует тем самым более быстрому восстановлению функции мышц (Леруа, Робен — Leroy, Robin, 1955).

ДРУГИЕ ФОРМЫ МЫШЕЧНОЙ ПАТОЛОГИИ

О характере биохимических сдвигов при других мышечных и нервно-мышечных заболеваниях известно очень мало. В то же время несомненно, что такие заболевания, как врожденные аномалии, параличи определенных групп мышц или областей, контрактуры, костно-суставные поражения и другие формы патологии опорно-двигательного аппарата имеют свои особенности. В процессе развития этих заболеваний различные группы мышц претерпевают разнообразные, нередко противоположные по своему направлению функциональные и морфологические изменения. Широко представлены здесь и явления адаптации мускулатуры к изменившимся условиям функционирования.

По нашим данным изучение мышечной ткани при таких формах заболеваний, как врожденные вывихи, кривошея, спастические параличи, врожденные уродства и т. д. свидетельствуют о наличии в мускулатуре выраженных биохимических сдвигов.

Содержание общего азота в патологически измененных мышцах обычно тем ниже, чем хуже функциональное состояние данной мышцы. Жировое перерождение и, возможно, несколько увеличенное содержание воды приводят к заметному снижению белков и других азотистых продуктов в единице веса ткани. Если количество общего азота в 1 г нормальной скелетной мышцы составляет около 30 мг, то при наличии в мышце атрофических и дегенеративных изменений эта величина падает до 18, 16 и даже до 11 мг. Следует, однако, отметить, что в отдельных случаях мышечной патологии содержание общего азота в мышечной ткани не только не уменьшается, но даже несколько выше, чем в нормальной мускулатуре. Можно думать, что в этих случаях имело место значительное обезвоживание пораженной мышцы, своеобразная «мумификация» ткани.

Вместе с прекращением или резким ослаблением функции мускулатуры в мышечной ткани падает содержание собственно мышечных и особенно миофибриллярных белков. В далеко зашедших случаях мышечной патологии миофибриллярные белки отсутствуют полностью. Об уменьшении количества миофибриллярных белков, в частности, можно судить по величине разницы в содержании азота при экстрагировании мышечных гомогенатов солевыми растворами с высокой и низкой ионной силой. О снижении содержания контрактильных белков миофибрилл также говорит и невозможность получения актомиозиновых нитей при выдувании через капилляр белкового раствора в дистиллированную воду или раствор Сент-Дьердьи.

Содержание азота в экстрактах, полученных из патологически измененных мышц, обычно низкое, не превышающее иногда 10% от общего азота мышечной ткани, в то время как в этих же условиях (при однократной экстракции раствором Вебера в течение 18—24 часов) из гомогената нормальных мышц извлекается около 50% азотистых продуктов. АТФ-азная

активность белковых экстрактов в подобных случаях ничтожна или же полностью отсутствует.

Как и при других формах мышечной патологии, между степенью, а также длительностью нарушения функции мускулатуры и глубиной и направлением сдвигов в белковом составе мышечной ткани наблюдается четкий параллелизм. Эту закономерность хорошо отражает электрофоретическая картина мышечных экстрактов. В зависимости от функционального состояния мышцы изменяется соотношение всех основных электрофоретических фракций — актомиозиновой, миогеновой и миоальбуминовой.

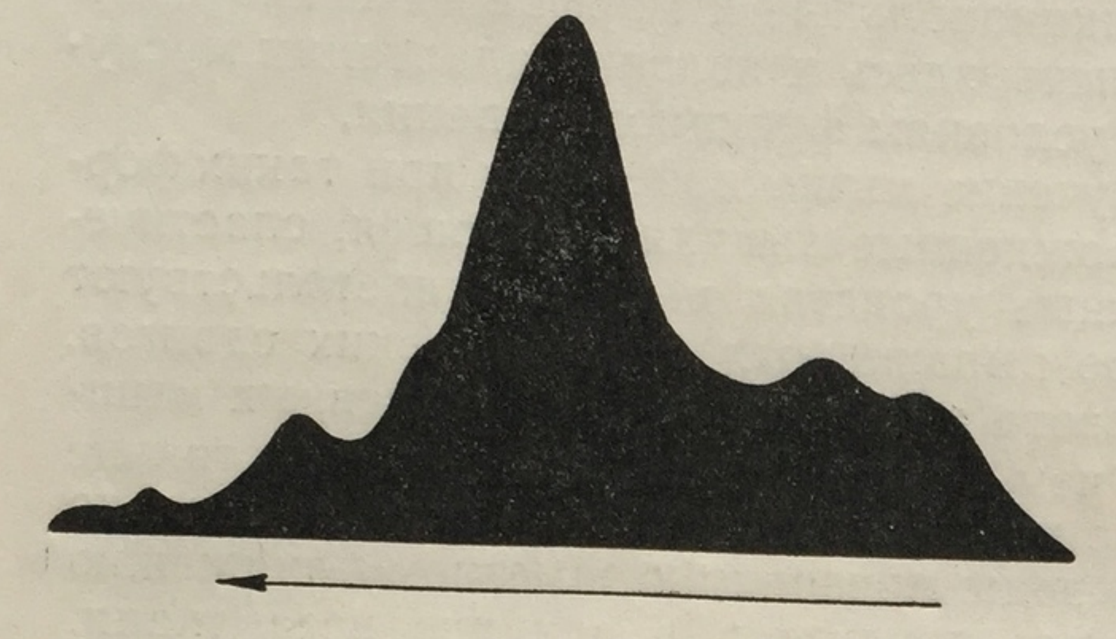


Рис. 18. Электрофореграмма белкового экстракта, полученного из мышц с резко выраженными атрофическими и дегенеративными изменениями (экстракция раствором Вебера).

В случаях резкой атрофии и дегенерации мышечной ткани электрофореграмма приобретает совершенно атипичный вид. Появляется ряд необычных пиков, обусловленных, по-видимому, присутствием неспецифических для нормальной мышечной ткани белков (рис. 18).

В мышцах, функция и трофика которых нарушена только частично, изменения фракционного состава белков выражены в значительно меньшей степени. Эти изменения описаны в разделе о полиомиелите. С ухудшением функционального состояния уменьшается содержание актомиозиновой фракции и отмечается относительное увеличение белков миогеновой фракции и миоальбумина.

При гиперфункции мускулатуры также наблюдаются сдвиги в белковом составе, но в противоположном направлении. В частности, увеличивается содержание белков актомиозинового комплекса. По данным А. Ф. Макаровой (1958) длительные и систематические физические упражнения у экспериментальных животных сопровождаются не только гипертрофией мускулатуры, но и увеличением в мышечной ткани содержания миозина. Подобное явление можно наблюдать и в тех случаях, когда определенная группа мышц в силу патологических причин принуждена в течение длительного времени выполнять значительно большую, чем в обычных условиях работу.

На рис. 19 представлена электрофореграмма белкового экстракта, полученного из ткани гипертрофированной мышцы. Обращает на себя внимание увеличение площади пика, соответствующего белкам актомиозинового комплекса. Относительное

содержание белков миогеновой группы при этом уменьшается.

Существенный интерес для суждения о функциональном состоянии мышцы представляют данные об изменении самих миофибриллярных белков и, в частности, изменения соотношений между миофибриллярными белками растворимыми при высокой и при низкой ионной силе солевого раствора. При длительной бездеятельности мускулатуры эти соотношения могут значительно изменяться. В табл. 19 представлен фракционный состав белков парализованной мышцы (спастический паралич — болезнь Литтля).

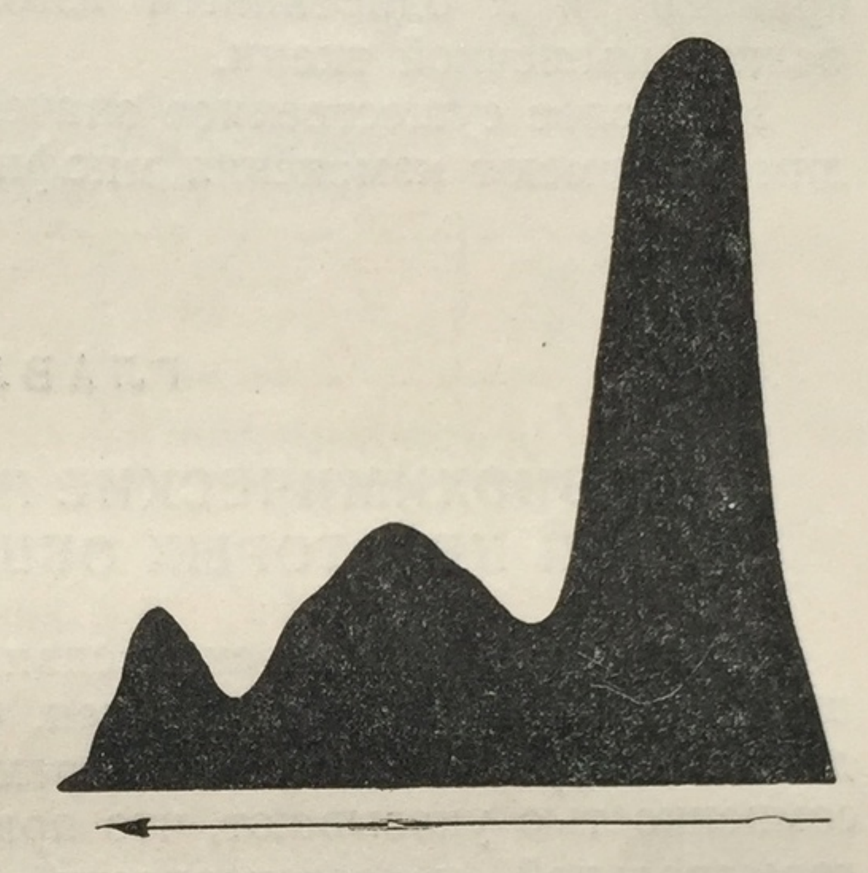


Рис. 19. Электрофореграмма белкового экстракта, полученного из гипертрофированной мышцы (экстракция раствором Вебера).

Как видно из приведенных в таблице данных, наряду с уменьшением общего содержания миофибриллярных белков и параллельным увеличением количества белков стромы значительно изменено отношение *АМ* : *Т*.

Вместо обычной величины 4 : 1—3,5 : 1 в ткани патологической мышцы это отношение равно 1,7 : 1.

В далеко зашедших случаях атрофии мышцы при ее бездеятельности содержание фракции *АМ* в мышечной ткани падает еще ниже.

Таблица 19

Фракционный состав белков парализованной мышцы
(в мг азота и в % по отношению к общему азоту мышцы) по В. А. Юрьеву

Общий азот	Остаточный азот		Саркоплазматические белки		Миофибриллярные белки [1]							Белки стромы	
					общие		*АМ*		*Т*		*АМ* / *Т*		
мг	мг	%	мг	%	мг	%	мг	%	мг	%		мг	%
31,6	0,98	3,1	8,26	26,1	11,3	37,1	7,6	23,5	4,3	13,6	1,7 : 1	10,08	31,9

[1] Здесь и при дальнейшем изложении приняты следующие обозначения миофибриллярных белков: общие миофибриллярные белки — белки, извлекаемые из гомогенатов мышц раствором Вебера или 0,6 М KCl после исчерпывающей экстракции саркоплазматических белков. Фракция *АМ* — белки, выпадающие в осадок при диализе общих миофибриллярных белков против 0,03, М KCl или при разбавлении их 15-кратным объемом дистиллированной воды. Фракция *Т* — миофибриллярные белки, оставшиеся при указанных условиях в надосадочной жидкости. Подробнее о фракционировании мышечных белков см. гл. V.

Отношение *АМ: Т* при этом может составить 1 : 4. Следует отметить, что по данным спектрофотометрии фракция *АМ* патологически измененных мышц содержит значительное количество нуклеиновых кислот.

Обращает на себя внимание тот факт, что различные причины вызывающие одинаковые или же близкие по своему характеру нарушения функционального состояния мускулатуры, приводят и к однотипным изменениям фракционного состава белков мышечной ткани.

Наиболее существенное значение для функции мышц, по-видимому, имеют изменения миофибриллярных белков.

ГЛАВА XII

ПАТОБИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В МЫШЦАХ ПРИ НЕКОТОРЫХ ОБЩИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Характер биохимических сдвигов в мышечной ткани при общих заболеваниях мало изучен. Однако даже и те скупые сведения, которые в настоящее время имеются в литературе, с несомненностью указывают, что при многих общих заболеваниях — гормональной недостаточности, авитаминозах, инфекционных болезнях и других формах патологии, мышечная ткань, так же как и другие ткани и органы, претерпевает нередко значительные изменения. Эти изменения, по-видимому, в большинстве случаев являются вторичными, так как они возникают на фоне общих обменных нарушений в организме и исчезают с ликвидацией основного заболевания. Однако в отдельных неблагоприятных случаях функциональные и морфологические изменения со стороны мышечного и нервно-мышечного аппарата настолько стойки и глубоки, что приобретают характер самостоятельных заболеваний и требуют дополнительных лечебных воздействий. С этой точки зрения изучение биохимических сдвигов в мышечной ткани при некоторых общих заболеваниях приобретает значительный интерес.

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В МЫШЦАХ ПРИ НЕКОТОРЫХ ГОРМОНАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЯХ

Надпочечники

Гормоны коры надпочечников. Резкая мышечная слабость, быстрая утомляемость и последующая атрофия мускулатуры, как известно, являются постоянными и характерными признаками адиссоновой болезни у человека и при эпинефректомии или адреналэктомии у животных. Быстро наступающая резкая

адинамия и нарушение ряда других жизненно важных функций после удаления коры надпочечников позволяют считать, что возникновение этого состояния связано с глубокими нарушениями обменных процессов и прежде всего, по-видимому, с нарушением солевого обмена.

О величине сдвигов ионного равновесия в плазме крови после удаления надпочечников можно судить по данным табл. 20.

Таблица 20

Изменения соотношения между Na и K у адреналэктомированной собаки,
по А. Г. Гинецинскому (1956)

Момент исследования	Na	K	$\frac{Na}{K}$
	В миллиэквивалентах на 1 л		
До операции	144	5,2	28
После удаления надпочечников	126	7,4	17
После введения гормонов коры	140	5,4	26

Хороший терапевтический эффект при содержании животных с удаленной корой надпочечников на солевой диете, восстанавливающей нарушенное равновесие в организме, также свидетельствует о том, что в возникновении отмеченных выше нарушений ведущую роль играет резкое извращение обмена солей.

Систематические исследования влияния гормонов коры надпочечников на электролитный состав мышечной ткани провели Флюккигер и Верцар (Flückiger, Verzar, 1954; Flückiger, 1955).

В опытах с изолированной диафрагмой крысы, помещенной в раствор Кребса с постоянным пропусканием газовой смеси из 95% O_2 и 5% CO_2, было показано, что гормоны надпочечников заметно изменяют способность мышцы поглощать и отдавать в окружающий раствор ионы K и Na. Увеличение содержания Na и уменьшение количества K в мышечной ткани при введении животным кортизона наблюдал Эллис (Ellis, 1955). С изменением баланса электролитов, по-видимому, связаны также стимуляция гормонами надпочечников сокращений утомлённой мышцы и влияние этих гормонов на нервномышечную передачу возбуждений Негрете-Мартине (Negrete-Martinez, 1954).

Ослабление мышечной активности при адреналэктомии у животных, возможно, также связано с уменьшением в мышцах активности АТФ-азы. Введение кортизона восстанавливает нормальную АТФ-азную активность в мышцах животных с удаленными надпочечниками (Кертаи, Гати, Фехер, Хармош, Кочиш — Kertai, Gati, Feher, Harmos, Kocsis, 1956). Отмечено влияние

гормонов коры надпочечников на содержание и обмен углеводов в мышечной ткани (Педерсен — Бьергард, Тенессен — Pedersen—Bjiergaard, Tonnessen, 1954). Общеизвестно стимулирующее действие кортикостерона на образование глюкозы из неуглеводистых соединений и, в первую очередь, из белков.

В более поздние сроки у животных с удаленными надпочечниками пареллельно развитию атрофии мускулатуры заметно изменяется и белковый состав мышечной ткани (Тремольер, Дераш, Гриффатон — Tremolieres, Derache, Griffaton, 1955). Характер изменений фракционного состава мышечных белков при развитии атрофического процесса был описан выше.

Щитовидная железа

Выяснению роли гормонов щитовидной железы в регуляции обменных процессов в животном организме посвящено огромное количество исследований. В то же время сведения о характере биохимических сдвигов в мышечной ткани при гипо- и гипертиреозах очень ограничены, и они касаются преимущественно углеводного обмена.

Имеется известное сходство обменных нарушений при денервации мышц и при гипертиреозе — снижение содержания гликогена, АТФ, креатинфосфата, усиление распада собственно мышечных белков и замещение их белками соединительной ткани и т. д. (Хуф, Фишер, 1949; А. И. Силакова 1953; и др.).

В случае гипертиреоза указанные изменения выражены менее резко, чем при денервации мышц.

В связи с замедлением аэробного синтеза макроэргических фосфорных соединений ряд авторов (Ларди, Фельдотт — Lardy, Feldott, 1951; Хох, Липманн — Hoch, Lipmann 1954; Мали, Ларди — Maley, Lardy, 1955; Мартиус — Martius, 1956; и др.) высказали мнение, что в основе нарушений углеводного обмена при гипертиреозе лежит нарушение окислительного фосфорилирования. С. Е. Северин (1957), специально изучавший этот вопрос, показал, что предположение о нарушении дыхательного фосфорилирования при гипертиреозе является ошибочным. Действительно, перенос фосфорного остатка с АТФ на креатин при гипертиреозе заторможен приблизительно наполовину по сравнению с нормой. Однако при акцептировании фосфорного остатка глюкозой в присутствии дрожжевой гексокиназы нарушения дыхательного фосфорилирования обнаружено не было. Г. С. Шевес и сотрудники (Г. С. Шевес, С. Е. Эпельбаум, В. И. Рюмина, 1956) изучали белковый обмен и окислительные процессы в денервированных мышцах гипотиреоидных животных. В опытах на кроликах было показано, что развитие атрофического процесса в мышцах при их денервации у гипотиреоидных животных происходит значительно медленнее, чем при денервации мышц нормальных животных. Гипотиреоз сопровож-

дается замедлением протеолитических процессов в мышцах и уменьшением поглощения ими кислорода. У гипотиреоидных животных в значительно меньшей степени, чем у нормальных кроликов увеличивается активность пирофосфатазы после денервации мышц.

Нарушение двигательной функции мускулатуры отчетливо наблюдается и при других формах гормональных расстройств, однако характер биохимических сдвигов в мышечной ткани при этих состояниях мало изучен.

Половые железы

Клинические формы гипо- и гиперфункции половых желез изучены подробно. Общеизвестно также влияние половых гормонов на рост и дифференцировку тканей и органов. Значительно меньше данных о влиянии половых гормонов на биохимические процессы в тканях и, в частности, на характер биохимических сдвигов, вызывающих нарушение мышечной деятельности.

Скау и Хейган (Scow, Hagan, 1955) изучали влияние введения тестостеронпропионата на фракционный состав белков поперечнополосатых мышц кастрированных самцов морских свинок.

Исследованию подвергались височная мышца и прямая мышца живота. Удаление семенников у подопытных животных, наряду с общей задержкой роста, приводило к заметному торможению роста височной мышцы и изменению ее состава.

Отмечено резкое уменьшение содержания белков актомиозинового комплекса, менее резкое уменьшение водорастворимых белков и остаточного азота. Количество белков стромы и в том числе коллагена при этом было увеличенным.

В противоположность этому, в прямой мышце живота кастрированных животных наблюдалось некоторое уменьшение содержания белков стромы и коллагена. Введение тестостеронпропионата приводило к нормализации роста и фракционного состава белков мышц.

Неодинаковую степень изменений различных мышц при кастрации животных наблюдали также Кочакян и др. (Кочакян, Тиллотсон, Остин, Доэрти, Хаг, Колсон — Kochakian, Tillotson, Austin, Dougherty, Haag, Coalson, 1956). В опытах этих авторов самцы морских свинок, кастрированные в возрасте 3—4 месяцев, умерщвлялись в различные сроки после кастрации. Изучались 49 отдельных мышц. Кастрация вызывала немедленное прекращение или замедление роста мышц, иногда с небольшими дегенеративными изменениями в них. В наибольшей степени поражались мышцы в области головы, шеи и полового члена. Содержание белкового азота в мышечной ткани не отличалось от нормы даже в мышцах подвергшихся большим изменениям.

Фракционный состав мышечных белков в этих исследованиях не изучался.

По данным В. И. Воронянского (1956), кастрация петухов оказывала заметное влияние на белковый состав скелетной мускулатуры при неизменном содержании общего азота. Отмечено увеличение содержания саркоплазматических белков и параллельное уменьшение структурных белков мышц. Эти изменения были выражены в большей степени в красных мышцах по сравнению с белыми и у половозрелых птиц больше, чем у неполовозрелых.

Как свидетельствуют приведенные выше наблюдения, недостаток мужских половых гормонов не только тормозит рост мускулатуры, но и вызывает в отдельных группах мышц заметные сдвиги в белковом составе, обычно наблюдаемые при атрофии мышечной ткани.

Леонард (Leonard, 1957) сравнивал степень атрофии и уменьшения содержания гликогена в мышцах levator ani и m. cremaster крыс после денервации и после кастрации. И в том, и в другом случаях были обнаружены атрофические изменения мышц и значительное снижение содержания гликогена. При денервации эти изменения были выражены в большей степени. Интересно отметить, что введение тестостерона приводило к накоплению гликогена в денервированных мышцах. Сведения об изменении мышечной ткани, при недостаточности половых гормонов, однако, не являются однородными, что, возможно, связано с различиями условий эксперимента и, в частности, с видом животного.

Так, Ламедика, Лотти и Гилотти (Lamedica, Lotti, Ghiglotti, 1957), изучая при помощи свободного электрофореза фракционный состав белковых экстрактов из скелетной мускулатуры кастрированных кроликов, пришли к выводу, что ни кастрация, ни введение тестотеронпропионата кастрированным животным не вызывают существенных изменений белкового состава мышц.

Имеются сведения о заметном влиянии половых гормонов на произвольную мышечную активность (Педерсен, Бьергор, Тенессен, 1954). При кастрации крыс произвольная мышечная активность заметно уменьшалась. Введение эстрогенов и андрогенов полностью восстанавливало эту функцию у кастрированных животных. Подобным же действием обладает кортизон и гидрокортизон. Последнее обстоятельство дает основание предполагать, что влияние половых гормонов на произвольную мышечную активность осуществляется посредством гормонов коры надпочечников. При адреналэктомии введение половых гормонов не восстанавливает нарушенную произвольную мышечную активность.

Каваками (Kawakami, 1955) провел электромиографические исследования и обнаружил, что введение половых гормонов

(эстрогены, тестостерон) вызывает заметное изменение интенсивности биотоков скелетных мышц. Попытка выяснить локализацию действия гормонов в опытах на спинальных и децеребрированных животных показала, что реактивностью к гормонам, по-видимому, обладает вся нервная система. Неодинаковая реакция различных мышц на введение одних и тех же гормональных препаратов дает основание предполагать наличие у разных мышц специфической реакции в ответ на воздействие гормонов.

Заметные сдвиги в содержании белков, углеводов, фосфорных соединений, а также изменения фракционного состава белков мускулатуры матки под влиянием половых гормонов отмечено рядом авторов.

АВИТАМИНОЗЫ

Нарушение тканевого дыхания и других существенно важных биохимических процессов является ведущей причиной многочисленных и разнообразных функциональных расстройств и последующих органических изменений при недостатке витаминов. Нарушение функции мускулатуры при авитаминозах и гиповитаминозах общеизвестно. Мышечная слабость и быстрая утомляемость являются постоянными признаками витаминной недостаточности. При хронических формах различных гиповитаминозов наблюдаются атрофические процессы в скелетной мускулатуре и снижение тонуса гладкомышечных органов. Мышечная деятельность, связанная с необходимостью больших энергетических затрат и усилением обменных процессов, требует постоянной доставки разнообразных витаминов. «Вся совокупность накопившихся наблюдений создала общее представление о разрушении витаминов в мышце при работе и накоплении их в тканях в результате тренировки» (Л. Н. Кузнецова, Е. В. Лахно, Р. В. Чаговец, 1953). Физическая работа на фоне витаминной недостаточности ускоряет появление признаков авитаминоза, отмечает Н. Н. Яковлев (1943).

При некоторых авитаминозах, например при Е-авитаминозе у животных, мышечная система поражается избирательно, и это заболевание служит экспериментальной моделью прогрессивной мышечной дистрофии у человека.

Авитаминоз С. Наиболее ранние исследования биохимических изменений в мышечной ткани и при авитаминозе С принадлежит А. В. Палладину с сотрудниками. В опытах на морских свинках было установлено увеличение количества креатина в мышцах С-авитаминозных животных (А. В. Палладин и А. И. Кудрявцева, 1923). В дальнейшем эти исследования были расширены определением содержания общего азота мышц и ряда фосфорных соединений (А. П. Палладин и С. Ф. Эпельбаум, 1928).

Из данных табл. 21 следует, что содержание общего азота в мускулатуре С-авитаминозных животных имеет тенденцию

к снижению, причем в неодинаковой степени в различных мышцах.

Значительно уменьшается содержание креатинфосфата и одновременно увеличивается количество креатина и неорганического фосфата. Содержание гексозомонофосфатов (лактоцидогена) изменяется незначительно. Обращает на себя внимание,

Таблица 21

Содержание креатина, креатинфосфата и фосфорных фракций в мышцах при авитаминозе С (средние данные в процентах на свежую ткань), по А. В. Палладину и С. Ф. Эпельбаум, (1928)

Виды мышц	Общий азот	H_3PO_4 лактоцидогена[1]	H_3PO_4 креатинфосфата	Неорганический H_3PO_4	Креатин	N креатина в % от общего N	Креатин креатинфосфата	Креатин фосфат в % от всего креатина
Контрольные морские свинки								
Прямая бедра	3,56	0,354	0,123	0,209	0,538	4,76	0,164	28,84
Полусухожильная	3,28	0,249	0,051	0,269	0,482	4,25	0,068	14,37
Сердечная	3,05	0,102	0,017	0,254	0,318	3,35	0,023	7,12
С-авитаминозные морские свинки								
Прямая бедра	3,43	0,339	0,09	0,261	0,614	5,14	0,121	19,94
Полусухожильная	3,28	0,325	0,03	0,306	0,504	5,0	0,04	10,73
Сердечная	2,90	0,089	0	0,258	0,239	2,44	0	0

[1] Прежнее название гексозомонофосфатов.

что креатинфосфат в сердечной мышце при авитаминозе С у животных полностью исчезает. Указанное обстоятельство, свидетельствующее о резком снижении синтеза макроэргических фосфорных соединений, несомненно имеет тесную связь с падением сердечной деятельности, часто наблюдаемой при этой форме витаминной недостаточности. Барбьери (Barbieri, 1955) изучал процессы фосфорилирования в различных органах морских свинок при С-авитаминозе и обнаружил понижение содержания в них АТФ, причем степень этого снижения находилась в прямой зависимости от развития недостаточности аскорбиновой кислоты. После 25-дневного содержания животных на диете, лишенной витамина С, количество АТФ снизилось в печени на 45%, в скелетных мышцах — на 40%, в мышце сердца — на 35% и в мозгу — на 30%.

Этим же автором было отмечено при С-авитаминозе снижение активности гексокиназы в поперечнополосатых мышцах и в сердце. На падение активности гексокиназы в мышцах при недостатке витамина С указывают и другие авторы (Лахири, Банерджи,— Lahiri, Banerjee, 1956) и связывают это явление с ослаблением синтеза инсулина в поджелудочной железе.

У скорбутных морских свинок обнаружено уменьшение толерантности к глюкозе, содержание гликогена в печени и мышцах снижено, содержание лимонной, яблочной и молочной кислот повышено. Длительное введение инсулина при С-авитаминозе сопровождается заметной нормализацией этих показателей (Банерджи, Бисвас, Сингх — Banerjee, Biswas, Singh, 1958). Последнее обстоятельство в известной мере подтверждает высказанную ранее точку зрения о том, что причиной нарушения углеводного обмена при скорбуте является недостаточное образование инсулина. Заметные сдвиги при авитаминозе С наблюдаются и в составе азотистых компонентов мышечной ткани. В ци-

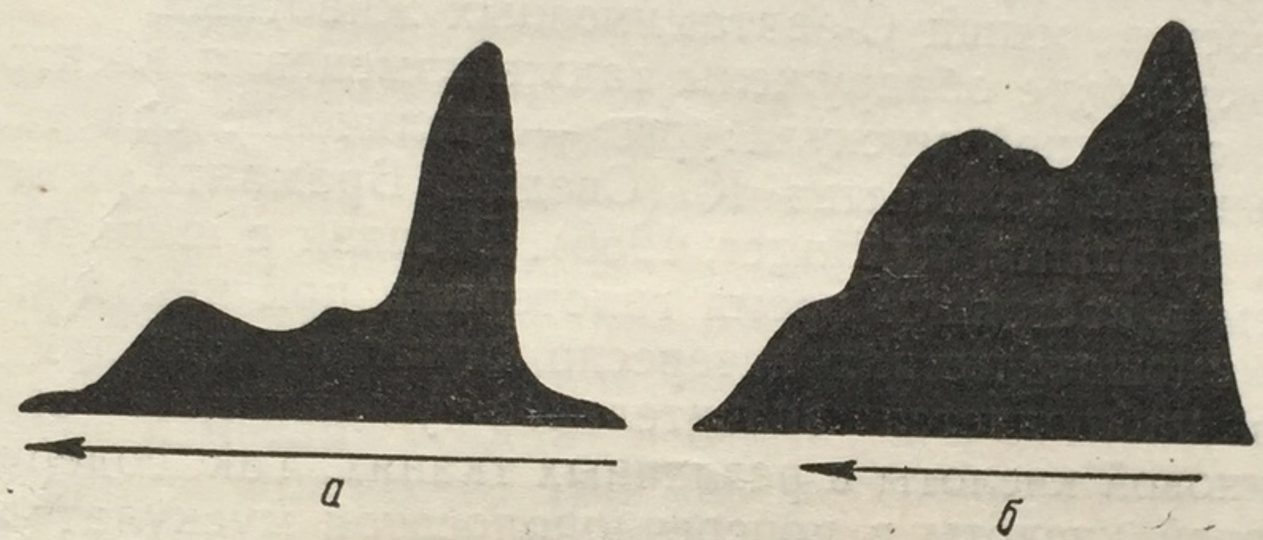


Рис. 20. Изменения состава мышечных белков при С-авитаминозе. Электрофореграммы экстрактов раствором Вебера.

а — нормальная мышца; *б* — мышца С-авитаминозного животного.

тированных выше исследованиях А. В. Палладина с сотрудниками было отмечено снижение общего азота в прямой мышце бедра и мускулатуре сердца С-авитаминозных животных. По нашим данным смешанные гомогенаты, полученные при одновременном измельчении различных скелетных мышц (мышцы задних конечностей, мышцы спины) у скорбутных морских свинок, содержат заметно меньшее количество азота (23—29 мг в 1 г сырой ткани), чем гомогенаты из таких же мышц нормальных животных (30—32 мг). Несколько уменьшается содержание азотистых продуктов, извлекаемых из гомогенатов мышечной ткани солевыми растворами с низкой ионной силой. Содержание остаточного азота в мышцах скорбутных морских свинок также снижается.

Электрофоретическая картина белковых экстрактов, полученных из мышц С-авитаминозных животных, заметно отличается от нормальной (рис. 20).

При авитаминозе С в значительной степени уменьшается интенсивность обновления белков мышечной ткани (Д. Л. Фердман, Е. Ф. Сопин, 1957).

Изменяется и состав компонентов остаточного азота. По данным Гинтера (Ginter, 1957), около 90% свободного

аминоазота в скелетных мышцах здоровых морских свинок приходится на долю глициновой фракции (содержащей, вероятно, также таурин и серин) аланина и глютаминовой кислоты. В более низких концентрациях были обнаружены глютамин, аспарагиновая кислота, лейцин, валин, метионин, оксипролин, тирозин, треонин, цистин и продукты его окисления, а также несколько неидентифицированных веществ. У животных с экспериментальным авитаминозом С в скелетных мышцах отмечено повышение глютаминовой кислоты, валина, метионина, лейцина и понижение содержания глютамина и аспарагиновой кислоты. Изменение набора свободных аминокислот в мышечной ткани, по-видимому, имеет тесную связь с отмеченными ранее сдвигами в белковом составе мышц С-авитаминозных животных.

При скорбуте обнаружены также изменения электролитного состава скелетной мускулатуры — увеличение содержания Na и уменьшение количества K (Сведин, Браманте, Риттингер — Swedin, Bramante, Ryttinger, 1956). В связи с широким использованием в настоящее время гипотермии при некоторых оперативных вмешательствах интересно отметить, что при этом состоянии наблюдается значительное уменьшение содержания аскорбиновой кислоты в различных тканях. Так, содержание аскорбиновой кислоты в поперечнополосатой мускулатуре уменьшается почти в два раза (И. Б. Митев, Н. А. Николаев, 1958).

Авитаминоз B_1. Недостаток витамина B_1, как известно, прежде всего проявляется в нарушении обмена углеводов. Участие липотиаминпирофосфата в декарбоксилировании кетокислот и, в частности, пировиноградной кислоты с последующим образованием ацетилкоэнзима А обеспечивает наряду с другими ферментными системами нормальное течение окислительного распада углеводов. Накопление в тканях пировиноградной кислоты является постоянным признаком авитаминоза B_1. Полиморфность клинических проявлений и биохимических сдвигов при недостаточности тиамина позволяет, однако, думать о более широком участии витамина B_1 в обменных процессах и в ряде функций. В то же время некоторые из наблюдаемых при авитаминозе изменений в организме несомненно имеет вторичный характер.

По данным А. И. Кудрявцевой (1923), А. В. Палладина и С. Ф. Эпельбаум (1928) в мышцах B_1 авитаминозных животных заметно нарастает содержание креатина при острых формах авитаминоза и мало изменяется его количество при хронической витаминной недостаточности. АТФ-азная активность гомогенов мышц у B_1-авитаминозных животных падает (Кольторти, Делла-Пьетра — Coltorti, Della-Pietra, 1953). При выполнении мышечной работы у животных, находящихся на пищевом рационе, дефицитном в отношении витамина B_1, в мышцах в значительно большей степени, чем у нормальных животных понижается содержание фосфокреатина и гликогена. Накопление этих веществ

в мышцах B_1-авитаминозных животных происходит очень медленно (Ю. Л. Карпухина, 1955).

По нашим наблюдениям при остром авитаминозе B_1 содержание азота в скелетной и гладкой мускулатуре голубя несколько увеличивается. Это явление, по-видимому, связано с некоторым обезвоживанием мышечной ткани. Содержание азота в экстрактах с высокой ионной силой незначительно снижено, в то время как количество белков, экстрагируемых солевыми растворами с низкой ионной силой, и уровень остаточного азота в скелетной мускулатуре не изменены. В противоположность этому, в гладкой мускулатуре (желудок) содержание остаточного азота заметно увеличено. Электрофоретическое изучение белковых экстрактов полученных из мышц B_1-авитаминозных животных (острая форма авитаминоза) не обнаруживает четких изменений фракционного состава мышечных белков.

Скорость обновления белков в мышечной ткани при авитаминозе B_1 снижается, однако, в меньшей степени, чем при авитаминозе С (Д. Л. Фердман, Е. Ф. Сопин, 1957).

При недостаточности тиамина в сердце и скелетных мышцах крыс уменьшается содержание аспарагиновой кислоты (более выраженное в мышце сердца) и глютамина. В скелетных мышцах снижается количество глицина и серина (Феррари — Ferrari, 1957).

Следует отметить, что при недостаточности витамина B_1 изменяется передача нервно-мышечных импульсов, и это может явиться одной из причин нарушения функционального состояния мускулатуры. Факты, показывающие влияние тиамина на сократительный акт, были получены как в эксперименте (Шемоль, Бурийе, Керп — Chemol, Bourillet, Kerp, 1955) так и в клинике (Ноги, Осада — Nogi, Osada, 1953).

Сведения о биохимических сдвигах в мышечной ткани при других формах авитаминозов еще более скудные.

БИОХИМИЧЕСКИЕ СДВИГИ В МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ ПРИ НЕКОТОРЫХ ИНФЕКЦИЯХ И ИНТОКСИКАЦИЯХ

Микробные и вирусные заболевания

Микелацци и др. (Michelazzi, Mor, Dianzani, 1955) изучали биохимические изменения в скелетных и сердечной мышцах морских свинок, отравленных столбнячным токсином. После введения в одну из задних конечностей очищенного токсина, выделенного из культуры Clostridium tetani наступает тетанус сначала той конечности, куда был введен токсин, а затем и других конечностей. Установлено, что содержание АТФ в скелетных мышцах при тетанусе сильно падает, причем при местном тетанусе это падение содержания АТФ сильней выражено в мышцах той конечности, куда производилась инъекция

токсина. После наступления общего тетануса содержание АТФ в равной степени понижено в мышцах обеих ног. При тетанусе незначительно возрастает содержание АДФ и в гораздо большей степени концентрации АМФ. Общее содержание аденина меняется мало. Содержание гексозодифосфатов в мышце при тетанусе несколько повышено. Концентрация АТФ в сердечной мышце при общем тетанусе снижена незначительно.

Тетанус не оказывает влияния на интенсивность аэробного окисления скелетными мышцами янтарной кислоты, *DL*-аланина и цитохрома *C*. Окислительное фосфорилирование протекает также нормально. Отмечено уменьшение содержания в мышцах РНК и ДНК. Кольторти и Виллари (Coltorti, Villari, 1954) в опытах с введением столбнячного токсина морским свинкам обнаружили заметное повышение АТФ-азной активности мышц, находящихся в состоянии тетануса. Прямое активизирующее влияние столбнячного токсина на АТФ-азу, как показывают опыты in vitro, исключается. Повышение АТФ-азной активности мышц при тетанусе, вызванном введением столбнячного токсина отмечали и другие авторы (Горини, 1954; и др.).

Приведенные экспериментальные данные позволяют думать, что понижение содержания АТФ в мышцах при гетанусе связано не только с усиленным потреблением этого соединения при мышечных сокращениях но, возможно, и с некоторым общим увеличением активности АТФ-азы и ухудшением условий синтеза АТФ. Как уже было отмечено, дыхательное фосфорилирование в мышцах при тетанусе не нарушено.

В патогенезе судорог, возникающих в результате введения животным столбнячного токсина, существенное значение, по-видимому, имеет повышение чувствительности мышц к ацетилхолину.

Гистохимические исследования нормальных и отравленных столбнячным токсином мышц показали одинаковое содержание в них холинэстеразы, однако ригидность и возбудимость скелетных мышц морских свинок, отравленных столбнячным токсином, уменьшается после введения лишь истинной, но не псевдохолинэстеразы.

Введение 0,2 мг эзерина морским свинкам, зараженным столбняком, приводило к их быстрой гибели, в то время как у здоровых животных эта доза эзерина вызывала лишь небольшие общие нарушения (Горини, 1954 и др.)

Некоторые биохимические сдвиги в мышцах были обнаружены и при вирусных инфекциях. По данным Грина (Green, 1956), на третий день после инфицирования мышей вирусом коксаки гликолитическая активность в мышцах была значительно сниженной.

После подкожного заражения мышей вирусом коксаки, в стадии комы, сменяющей паралич, электрофоретическая картина водорастворимых мышечных белков претерпевает заметные

изменения (Портокалэ, Москович — Portocala, Moscovici, 1958). Глубокие изменения фракционного состава мышечных белков в парализованных мышцах детей, перенесших полиомиелит, были описаны выше, в гл. XI.

Нарушение фосфоролиза в мышечной ткани было обнаружено при интоксикации, вызванной введением кишечной палочки, золотистого стафилококка и гемолитического стрептококка (Ди-Маджио, Меркаданте — Di-Maggio, Mercadante, 1956).

При заражении газовой гангреной обнаружено методом изотопной индикации уменьшение интенсивности обновления мышечных белков (И. Б. Фридлянд, 1956).

Отравления

Биохимические изменения наблюдаются и при некоторых отравлениях. Е. Д. Грищенко и В. В. Никитенко (1956) изучали интенсивность включения S^{35} метионина в ткани различных органов крыс и в актомиозин сердца и скелетных мышц при свинцовом отравлении. В течении болезни они отмечали три периода. В первый период (около 15 дней) скорость обновления актомиозина снижается, животные теряют в весе, содержание и вискозиметрическая активность актомиозина скелетных и сердечной мышц снижается. Во второй период (около 3 месяцев) наступает временная нормализация жизненных функций. Скорость обновления белков, содержание и вискозиметрическая активность актомиозина, вес и другие показатели возвращаются к норме. В третий период интоксикации (после 3 месяцев отравления) описанные показатели ухудшаются и, видимо, необратимо. Как известно, подобная цикличность патологического процесса наблюдается и при других интоксикациях. Терминальная стадия процесса в этих случаях обычно связана с глубоким поражением жизненно важных органов.

Несомненный интерес представляют данные о влиянии проникающей радиации на свойства мышечных белков.

Как отмечают И. И. Иванов, В. С. Балабуха, Е. Ф. Романцев, Т. А. Федорова (1956), контрактильные свойства мышечных белков не изменяются сколько-нибудь заметно при воздействии даже значительных доз проникающих излучений.

Эти данные были получены как в модельных опытах, так и в эксперименте на животных при применении абсолютно летальных доз рентгеновых лучей. Даже при наиболее тяжелых формах острой лучевой болезни не удается обнаружить достаточно выраженных сдвигов в свойствах контрактильных белков; их сократительной способности в присутствии АТФ, ферментативных свойствах миозина, содержании АТФ в мышечной ткани и т. д. Эти факты могут, между прочим, говорить и об отсутствии нарушения процессов окислительного фосфорилирования в мышечной ткани при лучевых поражениях.

Имеются, однако, и несколько другие данные. В ряде исследований, проведенных преимущественно на искусственных системах (гомогенатах мышечной ткани, экстрактах, белковых растворах и т. д.), обнаружены значительные изменения свойств мышечных белков под влиянием проникающих излучений (А. М. Кузин, Е. Г. Плышевская, 1956; В. А. Мужеев и З. И. Шитова, 1956; Доти, Уоктер — Doty, Wachter, 1955; Е. Д. Грищенко, 1958 и др.). Однако в этих исследованиях использовались огромные дозы проникающей радиации, в ряде случаев воздействующей в течение весьма продолжительного времени.

ГЛАВА XIII

БИОХИМИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ В МЫШЦАХ ПРИ НАЛОЖЕНИИ ЖГУТА

Изучение биохимических сдвигов при травматических повреждениях мышц несомненно представляет большой интерес для клинической и, в частности, для хирургической практики К сожалению, большинство вопросов этой области сравнительно мало освещены в специальной биохимической литературе. Значительно подробнее изучены биохимические процессы в мышцах при наложении кровоостанавливающего жгута, которое можно рассматривать как одну из форм компрессионной травмы. Наложение эластического бинта или жгута, как известно, является распространенным приемом временной остановки кровотечения при ранении конечности. По данным Г. Ф. Николаева (1953), во время Великой Отечественной войны для временной остановки кровотечения свыше чем в 65% случаев было применено наложение стандартного или импровизированного жгута. Наложение кровоостанавливающего жгута также применяется в клинической практике при производстве различных операций на конечностях. Является общепринятым, что время наложения жгута не должно превышать 2—2,5 часов. Если в условиях мирного времени соблюдение указанных сроков, как правило, является вполне реальным, то в военной обстановке это не всегда удается выполнить. По данным разработки материалов Великой Отечественной войны, двухчасовой срок удалось выдержать всего лишь в 46,2% случаев, т. е. меньше половины. В 12,8% жгут лежал свыше 6 часов (С. С. Гирголав, Т. А. Ачкасова, 1956). Таким образом, изучение характера и степени патологических изменений и глубины биохимических сдвигов, возникающих в тканях в зависимости от длительности наложения жгута является практически важной задачей. Следует подчеркнуть, что такая форма компрессии, как наложение жгута, представляет собой довольно сложную сумму вредящих воздействий. В этом случае в результате сдавления тканей имеются полная или ча-

стичная денервация, нарушение кровообращения, явления общей и местной интоксикации и пр. Разумеется, картина биохимических сдвигов в мышечной ткани и их глубина зависят от многочисленных факторов — времени, места и степени сдавления, толщины подкожного жирового слоя и мускулатуры, температуры окружающей среды и т. д.

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В МЫШЦАХ ПРИ НАЛОЖЕНИИ ЖГУТА

Детальное изучение обмена веществ в мышцах после наложения кровоостановливающего жгута проведено В. М. Кушко (1946, 1947, 1955, 1958), Т. Б. Фетисовой (1954) и их сотрудниками. Описанные биохимические сдвиги обнаружены преимущественно в эксперименте на животных (кроликах и собаках), причем в большинстве случаев для сравнительной оценки данных, полученных при наложении жгута использовались результаты аналогичных определений в симметричных мышцах интактной конечности. Последнее обстоятельство подчеркивается в связи с тем, что в интактной конечности нередко наблюдаются изменения подобные тем, которые обнаруживаются и в перевязанной жгутом конечности.

Белки мышц и азотистый обмен

Содержание общего азота в мышцах ниже места наложения жгута до его снятия не меняется вне зависимости от срока компрессии в пределах от одного до 24 часов (В. Н. Окунев, 1954). После снятия жгута, находившегося на конечности в течение трех часов, и восстановления кровообращения содержание

Таблица 22

Изменение содержания азота в мышцах и мышечных экстрактах после 6-часового наложения жгута

(в мг на 1 г сырой ткани и в процентах к общему азоту), по В. А. Юрьеву

Мышца		Экстракт раствором Вебера[1]		Экстракт фосфатн. буфером[2] pH 7,8 ± 0,1	
	мг	мг	%	мг	%
Контроль	32	18	56,2	7,2	22,5
Жгут	28	13,8	45,7	6	21,4

[1] Однократная экстракция в течение 18 часов.
[2] То же в течение 2 часов.

общего азота в пересчете на вес сырой ткани несколько уменьшается, что, по-видимому, связано с возникновением отека.

При более длительной компрессии (6 часов) количество общего азота в мышечной ткани и в экстрактах, извлекаемых солевыми растворами с высокой ионной силой и в меньшей степени солевыми растворами с низкой ионной силой уменьшается еще более (табл. 22).

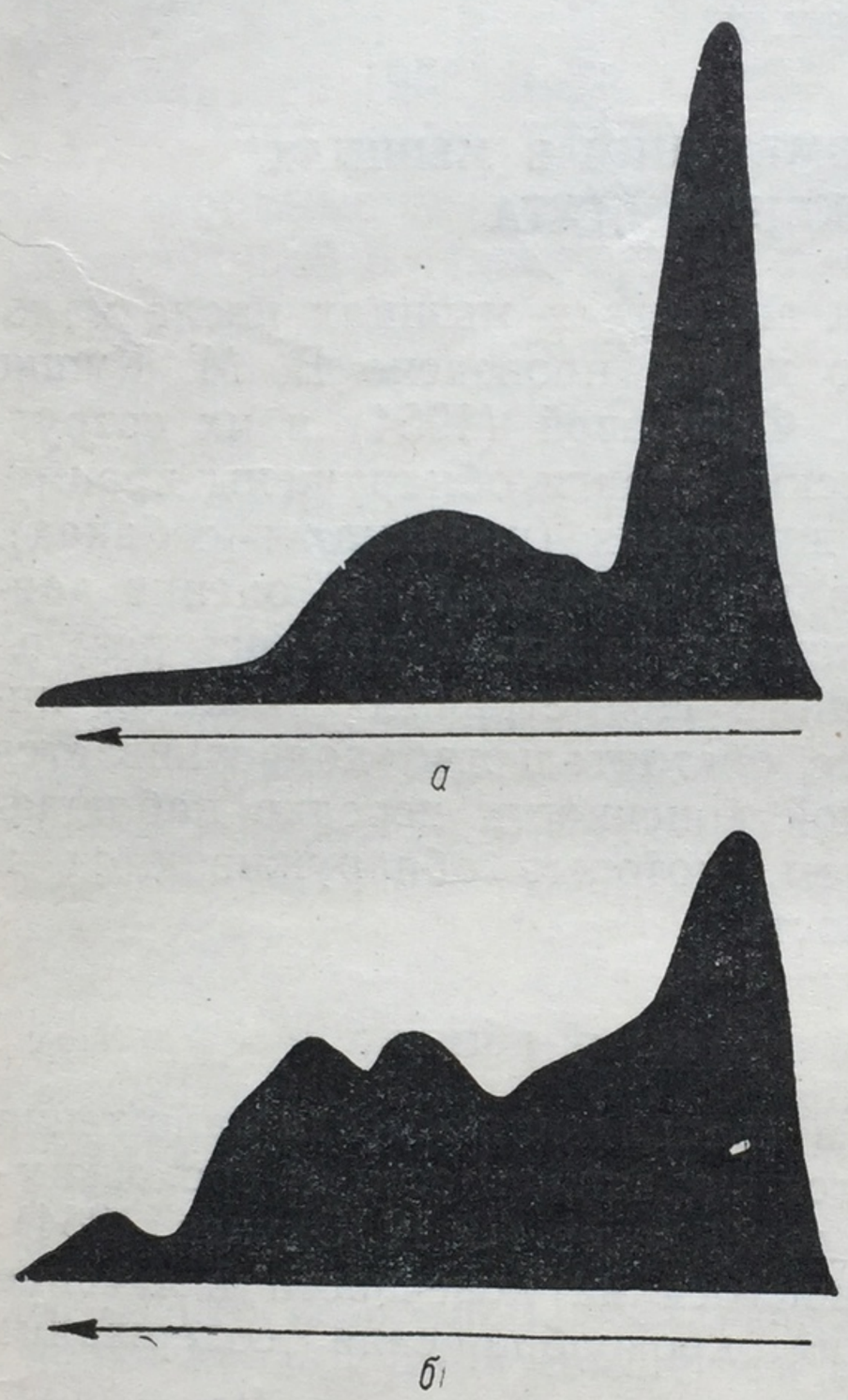


Рис. 21. Влияние наложения жгута на белковый состав мышц. Электрофореграммы мышечных белков, извлекаемых раствором Вебера.

а — нормальная мышца; *б* — мышца после наложения жгута.

Электрофоретическая картина белковых экстрактов, полученных из мышц животных, убитых через сутки после 6-часового наложения жгута, указывает на определенные сдвиги белкового состава поврежденных мышц и, в частности, на относительное уменьшение белков актомиозинового комплекса и увеличение фракции миоальбумина (рис. 21).

Возможно, однако, что при длительном наложении жгута имеет место частичная денатурация мышечных белков и в связи с этим изменяется и белковый состав экстрактов.

Уменьшение содержания миозина и водорастворимых белков в мышцах после наложения жгута отмечалось А. А. Новиковой (1955).

Содержание небелковых азотистых продуктов в поврежденной мышечной ткани также изменяется. Концентрация остаточного азота увеличивается в первые три часа после наложения жгута, но затем снижается. Количество аминного азота значительно возрастает, достигая максимума к 6 часу компрессии. В этот период содержание аминного азота в мышечной ткани поврежденной конечности в полтора раза выше, чем в контрольной конечности животного.

При наложении жгута в мышцах увеличивается также содержание аммиака, а при длительной компрессии и содержание амидного азота (В. Н. Окунев, 1954, 1956; В. М. Кушко, 1955 и др.),

Количество креатина в мышцах после компрессии заметно уменьшается (З. Ф. Стефановская, 1955).

Увеличение содержания низкомолекулярных азотистых продуктов после наложения жгута, по-видимому, связано с усилением протеолитических процессов в поврежденной мышечной ткани.

Углеводно-фосфорный обмен

Из наиболее общих показателей нарушения обменных процессов в мышечной ткани при наложении жгута обращает на себя внимание снижение дыхания и изменение дыхательного коэффициента. Если в интактной конечности дыхательный коэффициент составляет около 1, то в мышцах поврежденной конечности он равен 0,7—0,6. Это обстоятельство указывает на то, что при изменившихся условиях нарушается окисление углеводов и субстратом дыхания становятся другие органические вещества. Тем не менее, содержание гликогена в мышцах также заметно снижается: через 3 часа компрессии содержание гликогена в мышце составляет около 80% исходной величины, через 8 часов — около 20%, а к концу суток гликоген в мышечной ткани полностью исчезает. Параллельно уменьшению количества гликогена происходит увеличение концентрации молочной кислоты (В. М. Кушко, 1955; Т. Б. Фетисова, 1954, 1957).

Значительные изменения происходят и в содержании фосфорных соединений. Наиболее быстро из мышечной ткани исчезает креатинфосфат; основная масса его расходуется в течение первого часа. Содержание АТФ не изменяется в течение двух первых часов, но резко падает (на 40%) к концу третьего часа и совершенно исчезает к восьмому часу компрессии. Одновременно с уменьшением содержания креатинфосфата и АТФ возрастает количество неорганического фосфата. Обращает на себя внимание стабильность содержания АТФ в течение первых часов и, в частности, тогда, когда креатинфосфат в мышечной ткани практически отсутствует. Т. Б. Фетисова связывает это отчасти с возможностью поддержания уровня АТФ за счет процессов гликолиза, но главным образом за счет падения АТФ-азной активности мышечной ткани. Против первого предположения говорит заметное понижение содержания АТФ при наличии еще значительных запасов гликогена в мышечной ткани.

Ферменты мышц

Значительные изменения претерпевает активность различных мышечных ферментов, как гидролитических, так и окислительных.

Обращает на себя внимание активирование таких ферментов мышц, как амилаза и мальтаза при одновременном угнетении АТФ-азной активности (Т. Б. Фетисова, 1954; В. М. Кушко, 1955; Ковач, Такач и др. — Kovach, Takach, a. o. 1953, 1956а, б).

В то же время имеются данные, что наряду с угнетающим влиянием компрессии на АТФ-азную активность миозина происходит активизация водорастворимой мышечной АТФ-азы (Т. Б. Фетисова, 1954).

Первоначальный период некоторой активизации характерен и для глицерофосфатдегидразы. Активность лактикодегидразы сравнительно мало изменяется в течение первых 6 часов, в дальнейшем она падает. Еще более длительно сохраняется активность сукциндегидразы. Содержание глюкозы в мышце несколько уменьшается в первые часы и в дальнейшем изменяется незначительно (Т. Б. Фетисова, 1954, 1957).

Способность мышечной ткани к дегидрированию глюкозы в условиях опыта по Тунбергу (с метиленовой синью) в первые три часа наложения жгута значительно возрастает. В течение последующего времени она постепенно снижается и через 12 часов исчезает.

Из других изменений, происходящих в мышцах при наложении жгута, следует отметить снижение общего содержания липидов, увеличение содержания воды (отек), снижение величины pH до 5—5,5 (В. М. Кушко, 1955).

Представляет значительный интерес изучение биохимических изменений в мышце при наложении жгута в условиях выключения центральной нервной системы.

Наложение кровоостанавливающего жгута у животных, находящихся в состоянии амиталового сна, характеризуется некоторыми отличиями от описанной картины обменных нарушений.

При выключении центральной нервной системы заметно активируется дегидрирование сукцината и лактата, увеличивается величина общей редукции. В то же время, выключение ЦНС снимает явления активации некоторых других окислительных ферментов, обычно наступающие под влиянием компрессии. По мнению Т. Б. Фетисовой (1954), приспособительные реакции, которые может проявить мышца в первый период после наложения жгута, возможны лишь за счет влияния ЦНС.

Приведенные данные об изменении активности ряда ферментов говорят об определенной, носящей в известной мере компенсаторный характер, перестройке обменных процессов, особенно заметной в первые часы после наложения жгута. В частности, такой перестройкой является усиление анаэробных процессов в мышце в условиях кислородного голодания. Подобные изменения характера обменных процессов, являющихся выражением адаптации к изменившимся условиям, как известно, наблюдаются и при физиологических состояниях мышечной системы. Огромный экспериментальный материал в этой области представлен в многочисленных исследованиях А. В. Палладина (1935, 1937, 1945), Н. Н. Яковлева (1949, 1955, 1956, 1957) и их сотрудников. Было бы, однако, неправильно предполагать, что все происходящие биохимические сдвиги в мышцах после на-

ложения жгута на конечность имеют компенсаторный характер. Значительная часть обнаруженных изменений безусловно является выражением патологически извращенных обменных процессов, ухудшающих функциональное состояние мышц.

БИОХИМИЧЕСКИЕ СДВИГИ ПОСЛЕ СНЯТИЯ ЖГУТА

Значительные изменения происходят в мышце и после снятия кровоостанавливающего жгута, причем степень и полнота нормализации биохимических процессов в мышечной ткани в полной мере зависят от времени наложения жгута. В первые 2 часа после снятия жгута, находившегося на конечности в течение 3 часов, потребление кислорода мышечной тканью значительно повышается. Дыхательный коэффициент снижается до 0,35. В интактной конечности в то же самое время имеет место значительное повышение дыхания при незначительном уменьшении дыхательного коэффициента. Быстро нарастает количество гликогена, и уже через 1—6 часов содержание его в мышцах конечности, подвергшейся компрессии, выше, чем в интактной конечности. Это высокое содержание гликогена держится около суток, после чего оно возвращается к исходному уровню.

Количество липидов в мышце после снятия жгута вначале заметно снижается, затем резко увеличивается, причем еще через сутки содержание липидов в альтерированной мышце выше исходной величины. Небезинтересно отметить, что если жгут был наложен на конечность во время амиталового сна животного, то описанного выше резкого повышения уровня гликогена в поврежденных мышцах не наступает.

Уровень фосфокреатина после снятия жгута восстанавливается также довольно быстро, несмотря на то, что содержание его перед снятием жгута было близким к нулю. Содержание АТФ после снятия жгута вначале продолжает снижаться, затем постепенно увеличивается, доходя приблизительно через сутки до исходного уровня (В. М. Кушко, 1955).

Максимальные сдвиги наблюдаются на 20-м часу после снятия жгута. Быстрые изменения происходят и в содержании небелковых азотистых продуктов. Остаточный азот в мышцах снижается при одновременном увеличении его количества в крови. Снижается также содержание в мышцах аминного азота и аммиака. Через сутки содержание этих компонентов в мышечной ткани приходит к нормальному уровню.

Иссекуц, Хетеньи, Винтер (Issekutz, Hetenyi, Winter, 1955), исследуя обмен веществ в мышцах собаки после 4-часового наложения жгута на конечность, обнаружили аналогичные явления в отношении потребления кислорода и содержания АТФ. В наблюдавшихся изменениях они отмечали 3 фазы: первая фаза, длящаяся 40—60 минут после освобождения конечности от жгута, характерна повышенным потреблением мышцами O_2,

резким увеличением содержания АТФ, увеличенной отдачей в кровь неорганического фосфора. Вторая фаза, длящаяся 1,5—2 часа, отмечается нормализацией потребления O_2, увеличением отдачи молочной кислоты, по-прежнему повышенной отдачей в кровь неорганического фосфора и низким содержанием в мышцах АТФ. В последующей третьей фазе наступает постепенная нормализация обмена веществ в альтерированных мышцах.

Иордан и Грей (Jordan, Gray, 1955) накладывали на лапку крысам на 4 часа жгут и через различные сроки с помощью ионообменной хромографии определяли содержание АТФ. Содержание АТФ в мышцах перетянутой жгутом конечности было снижено примерно в 10 раз и оставалось на довольно низком уровне еще некоторое время после снятия жгута.

После снятия жгута pH мышечной ткани увеличивается, доходя до 7,4—7,6, в то время как резервная щелочность крови резко снижается, доходя до 25—30. Количество неорганического фосфора и калия в мышцах снижается, а хлора и кальция повышается. В крови имеются обратные соотношения, т. е. содержание фосфора и калия увеличивается, а количество хлора и кальция снижается (В. М. Кушко, 1955). По данным Макфи (MacPhee, 1955), после снятия жгута в мышцах обнаруживается резкое снижение концентрации калия и увеличивается содержание натрия.

Представляет известный интерес наличие параллелизма между степенью ацидоза и накоплением в мышцах аминокислот. Так, по данным Эккела, Попа и Норисса (Eckel, Pope, Norris, 1954), уменьшение в мышечной ткани содержания калия сопровождается закономерным увеличением концентрации основных аминокислот, в частности лизина. Возможно, что участие аминокислот в поддержании активной реакции в мышцах является отражением их более широкого участия в регулировании кислотно-щелочного равновесия в организме.

Восстановление активности ферментов происходит сравнительно медленно и в первые часы после снятия жгута; в отношении ряда ферментов наблюдается тенденция к дальнейшему снижению активности. Это особенно четко выражено у таких ферментов, как лактикодегидраза и глюкозодегидраза, активность которых через 3 часа после снятия жгута равна нулю. Активность других ферментов в это время составляет от $^1/_3$ до $^1/_2$ исходной величины. Относительно большую стойкость проявляет сукциндегидраза, активность которой возвращается к исходной величине на 5-е сутки, в то время как нормализация действия других ферментов наступает значительно позже (после 10 дней).

Следует отметить положительный эффект хорошо известного в хирургической практике приема — кратковременного перерыва компрессии. Восстановление кровообращения путем снятия жгута

на 5 минут при общем 4-часовом наложении жгута в гораздо меньшей степени изменяет активность ряда ферментов, чем непрерывная 4-часовая компрессия (В. М. Кушко, 1955, Т. Б. Фетисова, 1954).

Введение небольших доз АТФ в начальной стадии восстановления (АТФ вводился кроликам подкожно в количестве 10—25 мг) в значительной мере ускоряло нормализацию наблюдавшихся обменных нарушений (Т. Б. Фетисова, 1954).

Восстановительный период после снятия жгута, находившегося на конечности в течение 6 часов, протекает значительно более медленно и менее полно. Уровень гликогена снижен еще на 47-й день после снятия жгута. К этому же сроку активность дегидрогеназ и АТФ-азы также оказывается значительно сниженной.

Приведенные экспериментальные данные приводят к выводу о том, что 3-часовое наложение кровоостанавливающего жгута является предельным сроком, при котором возникшие биохимические сдвиги могут иметь еще полностью обратимый характер. После этого срока наступают стойкие нарушения как функционального, так и морфологического характера.

ГЛАВА XIV

ИЗМЕНЕНИЕ БЕЛКОВОГО СОСТАВА МУСКУЛАТУРЫ СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ ПРИ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ

Детали патогенеза сосудистых дистоний в настоящее время нам еще не известны. Нет сомнения в том, что центральные нервные влияния являются решающим фактором в возникновении артериальной гипертонии. Огромное значение психического перенапряжения отрицательными эмоциями в этиологии и патогенезе гипертонической болезни отмечалось Г. Ф. Лангом (1922), И. Г. Гельманом (1927), А. А. Богомольцем (1929), М. П. Кончаловским (1937), А. Л. Мясниковым (1954, 1958), В. Ф. Зелениным (1945) и рядом других видных патологов и клиницистов. Ряд исследователей (Кайлин — Kylin, 1937; Кеппола — Keppola, 1924 и др.) придавали большое значение в возникновении гипертонической болезни эндокринным нарушениям. В. М. Коган-Ясный (1938) высказал мысль, что эссециальная гипертония является «гипертонией вегетативной, эндокринной или гуморальной, связанной с различными химико-биологическими процессами».

Следует подчеркнуть, что вопрос о причинах изменений сосудистого тонуса обычно ставится только в связи с происхождением, характером и силой внешних факторов, воздействую-

щих на моторную функцию сосудистой стенки, и при этом совершенно не уделяется внимания возможным изменениям механизма, непосредственно участвующего в осуществлении тонического натяжения сосудов. В наиболее категорической форме этот взгляд высказан А. Л. Мясниковым в его статье в БМЭ (1958), где он писал: «Повышение кровяного давления при гипертонической болезни зависит от тех или иных причин, лежащих вне сферы собственно сосудов».

Непризнание возможной роли периферического механизма (самой стенки сосуда) в стойких изменениях сосудистого тонуса, по-видимому, в известной степени объясняется тем, что патологоанатомические изменения сосудистой стенки при гипертонической болезни не дают достаточных оснований видеть в этих изменениях причину нарушений сосудистого тонуса. Как известно, в большинстве случаев гипертонии обнаруживаются гиперпластические и гипертрофические изменения в мышечной ткани сосудов, однако наряду с этим нередко отмечаются те или иные степени атрофии, а также дегенеративные изменения мускулатуры сосудов.

Наконец, в известном числе случаев смерти от гипертонической болезни на секции вообще не удается обнаружить сколько-нибудь заметных морфологических изменений в мышечном слое сосудов (Г. Ф. Ланг, 1950). В некоторой степени эти противоречивые данные, по-видимому, объясняются неоднородностью обследованных объектов в отношении тяжести основного заболевания, времени течения болезни и т. д. Атеросклеротические изменения сосудов, обычно наблюдаемые при гипертонической болезни, еще больше затрудняют суждение о возможном характере морфологических изменений сосудов, связанных именно с гипертонией.

К числу немногих исследователей-клиницистов, придающих большое значение в генезе сосудистых дистоний определенному анатомическому субстрату со стороны стенок сосудов, следует отнести В. А. Вальдмана. Не отрицая значения нервно-психических, гормональных и других влияний на сосудистый тонус, В. А. Вальдман постулирует следующее положение: «В основе стойкого сдвига установки тонуса сосудов на другой уровень должно лежать изменение физико-химического субстрата коллоидальной мышечной субстанции сосудов» (1940).

Этот взгляд не встретил в свое время сочувствия со стороны наиболее видных клиницистов (Г. Ф. Ланг и др.) в связи с отсутствием прямых доказательств в пользу указанного положения.

Разумеется, если речь идет о транзиторных формах сосудистых дистоний, можно вполне согласиться с их чисто функциональным происхождением, однако, если изменения сосудистого тонуса выражены сильно и имеют длительный характер, а это состояние и имеет в виду В. А. Вальдман, можно предположить,

что и в мускулатуре сосудов в результате адаптации к изменившимся условиям также произойдут определенные изменения.

Для понимания патогенеза стойких нарушений сосудистого тонуса выяснение этого вопроса, очевидно, имеет принципиальное значение.

Следует отметить, что исследование в этой области связано со значительными трудностями. Как известно, изменение кровяного давления особенно сильно зависит от состояния тонуса мелких сосудов — прекапилляров и артериол, т. е. от тонуса того участка сосудистого русла, морфологические изменения которого наиболее трудно исследовать. Более удобным объектом изучения являются сосуды мышечного типа, например a. renalis, a. lienalis и др. Но можно ли на основании данных, полученных при исследовании сосудов мышечного типа, делать заключение об аналогичных изменениях в более мелких сосудах? По-видимому, в известной степени это допустимо, поскольку изменения тонуса в том же направлении наблюдаются и в более крупных сосудах (Ланг Г. Ф., 1950).

Попытки суждения о причинах изменений тонического напряжения сосудистой стенки осложняются также известной неопределенностью наших знаний о биохимическом субстрате тонуса гладкой мускулатуры. Современные представления о субстратах фазной деятельности и запирательной функции мускулатуры были изложены в первой части книги. Исходя из этих представлений, следует подчеркнуть, что причиной изменений контрактильных свойств и тонической деятельности мышц могут явиться не только количественные изменения мышечной ткани в стенках сосудов, но и качественные сдвиги во фракционном составе мышечных, вероятно, главным образом миофиброллярных белков.

Факты, говорящие о наличии закономерной связи между фракционным составом белков мускулатуры и ее сократительной способностью, а также запирательной функцией, в настоящее время хорошо известны (И. И. Иванов, 1949, 1950б); И. И. Иванов, З. Н. Жахова; И. П. Зиновьева; Н. И. Мирович; Э. А. Паршина; В. А. Юрьев; В. П. Моисеева и С. Е. Тукачинский, 1959).

Таким образом, создаются определенные возможности на основании изучения белкового состава мышечной ткани сосудов подойти к выяснению вопроса о непосредственной роли сосудов в стойких изменениях сосудистого тонуса.

Сведений о белковом составе мускулатуры сосудистой стенки в литературе, к сожалению, не имеется.

В. А. Юрьев (1960) изучал фракционный состав мускулатуры сосудов мышечного типа у животных и у человека и некоторые ферментативные свойства белковых мышечных экстрактов. Подобные же исследования были проведены В. А. Юрьевым на сосудах людей, погибших от тяжелых форм гипертонической болезни.

Сосуды животных (крупный рогатый скот) были получены непосредственно после убоя животных на бойне. Преимущественно использовались почечные артерии и их ветви, а также артерии других внутренних органов. Одноименные сосуды человека извлекались из трупа во время секции в день смерти или же на следующий день, но обычно не позднее суток после смерти.[1]

Нормальные сосуды человека были получены из трупов людей молодого или среднего возраста, погибших в результате несчастных случаев, при жизни не имевших заболеваний сердечно-сосудистой системы. Патологически измененные сосуды были взяты из трупов людей, основной причиной смерти которых явилась гипертоническая болезнь.

Кусочки сосудов освобождались от наружной и внутренней оболочек. Тщательность препаровки, в результате которой изолировался мышечный слой сосудов, особенно в первый период работы, проверялась микроскопированием полученного материала.

Извлеченная таким образом мышечная ткань сосудов в дальнейшем размельчалась острыми ножницами и тщательным растиранием с кварцевым песком. Полученный гомогенат подвергался фракционному экстрагированию по схеме, описанной ранее.

Фракционный состав белков мускулатуры нормальных сосудов. Суммарные сведения о белковом составе мускулатуры сосудов представлены в табл. 23.

Таблица 23

Фракционный состав белков мышечной стенки сосудов крупного рогатого скота
(в мг и % к общему азоту в 1 г сырой ткани), по В. А. Юрьеву

Общий азот	Остаточный азот		Саркоплазматические белки		Миофибриллярные белки (белки, извлекаемые 0,6 м KCl)							Белки стромы	
					сумма		*AM*		*T*		$\frac{AM}{T}$		
мг	мг	%	мг	%	мг	%	мг	%	мг	%		мг	%
34,8	0,92	2,64	5,78	16,6	3,59	10,3	0,57	1,68	2,9	8,33	1/5	24,6	70,7

[1] Следует напомнить, что по нашим данным, а также по данным Б. С. Касавиной и Ю. М. Торчинского (1956), фракционный состав мускулатуры не изменяется через сутки и даже через большие промежутки времени после смерти животного, при условии нахождения мышечной ткани при низкой температуре (0—4°). Об этом же косвенно свидетельствуют наблюдения В. А. Вальдмана (1923) и А. А. Нечаева (1923) в лаборатории Н. П. Кравкова, наблюдавших неизменяемость сосудистой реакции в изолированных органах человека в течение многих часов после смерти.

Мускулатура сосудов отличается от других типов гладкой мускулатуры (желудка, матки) большим содержанием азота. В 1 г сырой мышечной ткани сосудов содержится около 30 мг общего азота, в то время как в мускулатуре желудка и матки общий азот составляет соответственно около 24 и 22 мг на 1 г ткани[1].

Общий азот мышечной ткани сосудов и скелетной мускулатуры приблизительно одинаков.

Следует, однако, отметить, одну методическую трудность, оказывающую влияние на точность определения величины общего азота в мускулатуре сосудов.

В процессе препаративного выделения мышечного слоя сосудов, который представляет собой нередко очень тонкую пленку, может происходить некоторое высыхание ткани и в связи с этим возрастать в ней относительное содержание общего азота.

Вероятно, именно этой методической погрешностью объясняется некоторый разброс величин общего азота при анализе различных образцов сосудистой мускулатуры.

Обращает на себя внимание чрезвычайно низкое и непостоянное содержание небелкового (остаточного) азота в мускулатуре сосудов (от 0,21 до 0,92 мг на 1 г сырой ткани), составляющее от $^1/_8$ до $^1/_2$ величины остаточного азота в гладкой мускулатуре других типов и от $^1/_{20}$ до $^1/_5$ этой величины в скелетных мышцах.

Доля азота саркоплазматических белков значительно — приблизительно в два раза — меньше, чем в мускулатуре желудка и матки, а также сердца и скелетной мышцы, и составляет около 5 мг азота на 1 г ткани.

Количество белков, извлекаемых из гомогенатов мускулатуры сосудов солевыми растворами с высокой ионной силой, т. е. белков миофибрилл, также очень невелико — оно составляет приблизительно $^1/_5$ содержания этих белков в скелетной мускулатуре и от $^1/_3$ до $^1/_2$ количества миофибриллярных белков в мускулатуре других типов. Вероятно, это объясняется прежде всего тем, что в состав мышечного слоя сосудистой стенки, помимо собственно мышечных элементов, входит значительное количество соединительнотканных белков (см. ниже, стр. 228).

Большой интерес представляют особенности фракционного состава миофибриллярных белков сосудов. Как известно, при разведении раствора миофибриллярных белков дистиллированной водой, или диализе против солевого раствора с низкой ионной силой, часть белков выпадает в осадок. Эта группа белков

---

[1] Приведенные для сравнения данные по фракционному составу белков скелетной мускулатуры, а также мускулатуры сердца, желудка и матки кролика взяты из работы И. И. Иванова, З. Н. Жаховой, И. П. Зиновьевой, Н. И. Мирович, В. П. Моисеевой, Э. А. Паршиной, С. Е. Тукачинского и В. А. Юрьева (1959).

представлена главным образом актомиозином и нуклеопротеидами и обозначена в таблице как фракция *«АМ»*. Другая часть хорошо растворимых при низкой ионной силе миофибриллярных белков остается в надосадочной жидкости. Соотношение содержания этих двух групп белков, по И. И. Иванову с сотрудниками является весьма характерной величиной для мускулатуры различных типов и несомненно связано с особенностями функции мускулатуры. Напомним, что эта величина для скелетной мускулатуры равна 4 : 1; для миокарда — 1,5 : 1; для мышцы желудка — 1 : 1,5 и наконец для миометрия — 1 : 3.

Отношение *АМ/Т* для мускулатуры сосудов составляет приблизительно 1 : 5. Иначе говоря, основная масса миофибриллярных белков мышц сосудов представлена не белками актомиозинового комплекса, а белками фракции *Т*.

Содержание белков стромы в сосудистой мускулатуре очень велико, оно составляет до 70% и более всех белков мышечного слоя.

Эта цифра не должна вызывать удивления, если вспомнить особенности гистологического строения сосудистой стенки: обилие находящихся в ней соединительнотканных образований — коллагеновых волокон, эластических мембран и т. д. Вопрос о том, какова роль этих соединительнотканных образований, образующих определенные упорядоченные структуры сосудистой стенки, в поддержании тонуса сосудов, до настоящего времени не может считаться полностью выясненным. Вполне допустимо предположить, что эластические мембраны сосудистой стенки не только выполняют функцию своеобразного скелета, обусловливающего значительную прочность сосудов, но и являются в известной степени буфером, препятствующим резкому изменению сосудистого тонуса. Учитывая эту роль эластических мембран, можно согласиться с положением С. И. Щелкунова, «что эластическая строма вместе с гладкой мускулатурой составляет в стенке сосуда аппарат, придающий стенке исключительную эластичность и в зависимости от функционального состояния изменяющий просвет сосуда» (С. И. Щелкунов, 1957).

Электрофоретическое изучение белковых экстрактов, полученных из мускулатуры сосудов. *Белки, извлекаемые солевыми растворами с низкой ионной силой.* Электрофоретическая картина саркоплазматических белков сосудов достаточно своеобразна. Как правило, четко вырисовываются пять индивидуальных пиков. В настоящее время еще не представляется возможным с достаточной достоверностью идентифицировать каждый из этих пиков с определенными белками за исключением пика, соответствующего наиболее подвижной фракции — миоальбумину. Относительное содержание миоальбумина очень высоко. Остальные четыре пика, по-видимому, представляют белки миогеновой группы.

Типичная электрофоретическая кривая саркоплазматических белков сосудов представлена на рис. 22, *б*.

Электрофорез белковых экстрактов с высокой ионной силой. Мышечные белки сосудов, извлекаемые из гомогенатов ткани раствором Вебера обычно представлены на электрофореграмме пятью или шестью пиками (рис. 22, *а*). Первый пик соответствует актомиозину, который при электрофорезе на бумаге остается на месте нанесения, последний — миоальбумину. Промежуточное положение занимают белки миогеновой группы и, возможно, другие еще не идентифицированные белки. Электро-

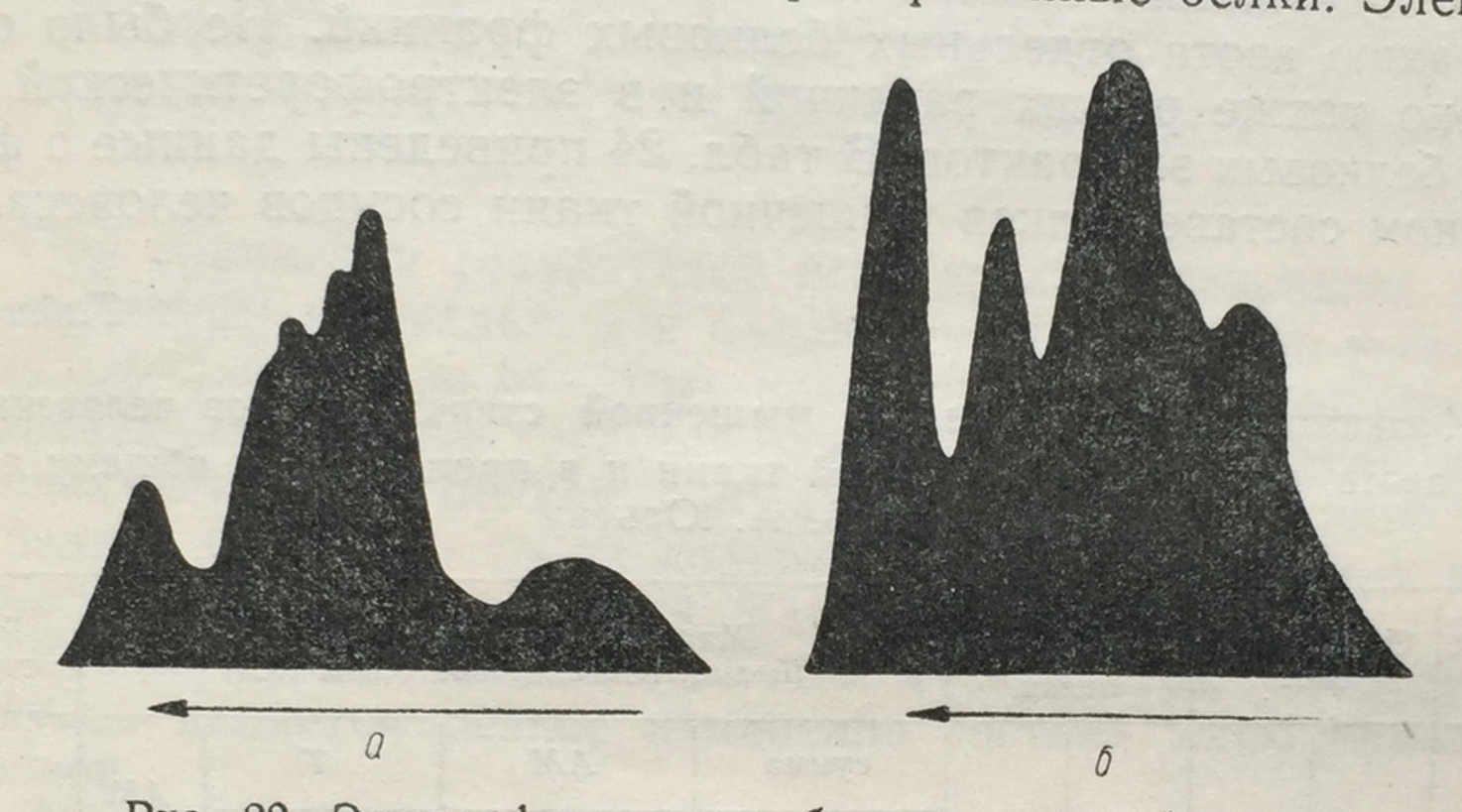


Рис. 22. Электрофореграммы белков мышечной ткани сосудов.

а — белки, извлекаемые солевыми растворами с высокой ионной силой; *б* — белки, извлекаемые солевыми растворами с низкой ионной силой.

форетические данные весьма четко отражают своеобразие фракционного состава белков мускулатуры сосудов и в первую очередь низкое содержание в ней белков актомиозинового комплекса. Эти данные находятся в хорошем соответствии с результатами фракционного экстрагирования белков мышечной ткани сосудов. Относительное содержание миоальбумина на электрофореграммах белковых экстрактов с высокой ионной силой несколько ниже, чем на предыдущей электрофореграмме. Это объясняется тем, что раствором Вебера извлекаются не только саркоплазматические, но и растворимые при высокой ионной силе раствора миофибриллярные белки, в результате чего процентное содержание водорастворимых белков, и в частности миоальбумина, в экстракте понижается.

Несомненный интерес представляет электрофоретическая картина растворимых при низкой ионной силе миофибриллярных белков, т. е. белков фракции *Т*. Обычно эта фракция, полученная из скелетной мускулатуры, мускулатуры сердца, желудка и матки, дает три достаточно выраженных электрофоретических пика, обусловленных наличием тропомиозина, белка Цао

и белков еще невыясненной природы (см. гл. I). Фракция *T* сосудов на электрофореграмме представлена значительно большим числом компонентов, образующих до шести отдельных пиков. Идентификация и изучение свойств белков, обусловливающих эти пики, представляет большой интерес.

Фракционный состав мышечных белков нормальных сосудов человека. Сравнительное изучение мускулатуры сосудов у здоровых животных и человека показало отсутствие принципиальных различий в ее белковом составе. Это положение относится как к содержанию общего азота в мышечной ткани, так и к содержанию азота отдельных белковых фракций. Не было обнаружено также резких различий и в электрофоретической картине белковых экстрактов. В табл. 24 приведены данные о фракционном составе белков мышечной ткани сосудов человека.

Таблица 24

Фракционный состав белков мышечной стенки сосудов человека (в мг азота фракции в 1 г сырой ткани и в процентах к общему азоту), по В. А. Юрьеву

Общий азот	Остаточный азот		Саркоплазматические белки		Миофибриллярные белки (белки, извлекаемые 0,6 м KCl)							Белки стромы	
					сумма		*AM*		*T*				
мг	мг	%	мг	%	мг	%	мг	%	мг	%	$\frac{AM}{T}$	мг	%
33,6	0,7	2,1	4,3	12,44	3,51	10,45	0,62	1,85	2,78	8,27	1 : 4,5	24,8	73,6

Следует отметить, что в мускулатуре сосудов человека содержание саркоплазматических белков, как правило, несколько ниже. Что же касается количества остаточного азота то, как уже было подчеркнуто раньше, эта величина и в мускулатуре сосудов человека и животных подвержена наибольшим колебаниям.

Белковый состав мускулатуры сосудов при гипертонической болезни. При изучении белкового состава мускулатуры сосудов людей, погибших от гипертонической болезни, были использованы участки сосудов без выраженных атеросклеротических изменений, в средней оболочке которых отсутствовали какие-либо макроскопические заметные включения или дефекты.

Основным диагнозом заболевания и причиной смерти людей, сосуды которых подвергались изучению, была гипертоническая болезнь III или II—III степени. В большинстве случаев это были люди среднего или пожилого возраста.

Данные о фракционном составе белков мускулатуры сосудов при гипертонической болезни представлены в табл. 25.

Таблица 25

Фракционный состав белков мышечной стенки сосудов при гипертонической болезни

(в мг азота в 1 г сырой ткани и в процентах к общему азоту), по В. А. Юрьеву

Общий азот	Остаточный азот		Саркоплазматические белки		Миофибриллярные белки (белки, извлекаемые 0,6 м КС)							Белки стромы	
					сумма		*АМ*		*Т*		$\frac{АМ}{Т}$		
мг	мг	%	мг	%	мг	%	мг	%	мг	%		мг	%
26,6	0,84	3,16	3,16	11,7	3,23	12,1	2,05	7,04	0,93	3,5	2:1	19,32	72,6

При сравнении результатов исследования белкового состава мускулатуры нормальных и патологических сосудов в большинстве случаев можно отметить некоторое снижение общего азота в последних. Что же касается основных белковых фракций: саркоплазматических белков, суммарных миофибриллярных белков и белков стромы,— то их содержание в нормальных и патологических сосудах отличается сравнительно мало.

Весьма существенным отличием мускулатуры патологических сосудов является резкое изменение состава миофибриллярных белков.

Как уже было отмечено, общее содержание миофибриллярных белков в патологических сосудах приблизительно такое же, как в нормальных, однако соотношение миофибриллярных белков, растворимых при высокой ионной силе раствора (фракция *АМ*), и миофибриллярных белков, растворимых при низкой ионной силе (фракция *Т*), изменяется очень резко. Отношение АМ : Т вместо 1 : 5; 1 : 4 становится равным 2 : 1. Иначе говоря, содержание белков фракции *Т* уменьшается в три раза и во столько же раз увеличивается количество белков фракции *АМ*.

Отношение *АМ/Т*, как уже неоднократно подчеркивалось, является весьма характерной величиной, имеющей, по-видимому, прямое отношение к функциональным особенностям того или иного типа мускулатуры. С усилением тонической (запирательной) функции в мышцах нарастает содержание белков фракции *Т* и снижается количество белков актомиозинового комплекса. При гипертонической болезни, как это ни парадоксально на первый взгляд, наблюдается обратное явление, т. е. увеличение содержания белков фракции *АМ* в мускулатуре сосудов и уменьшение количества белков фракции *Т*.

Следует, однако, оговорить, что белки фракции *АМ* не являются только контрактильными белками. Как уже указывалось (см. гл. V стр. 122), эта фракция содержит значительное количество нуклеопротеидов и, возможно, других белков. Тем

не менее, создается впечатление, что при гипертонической болезни, наряду с гипертрофией сердечной мышцы, увеличивается сократительная способность мускулатуры сосудистой стенки, возникают условия для своеобразной гиперфункции контрактильных элементов.

Вместе с этим, разумеется, нельзя не учитывать влияния на специфические особенности функции мускулатуры характера и силы побуждающих к деятельности импульсов.

Наблюдаемые сдвиги во фракционном составе миофибриллярных белков сосудов несомненно могут быть одной из существенных причин извращенной реакции мускулатуры сосудистой стенки не только на измененные, но и на обычные раздражители.

ЧАСТЬ ТРЕТЬЯ

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

ГЛАВА XV

МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ НЕКОТОРЫХ МЫШЕЧНЫХ БЕЛКОВ И СПОСОБЫ ИХ ИССЛЕДОВАНИЯ

ПРИГОТОВЛЕНИЕ АКТОМИОЗИНА (МИОЗИНА В)

Охлажденные мышцы, взятые от только что убитого животного, измельчают в мясорубке с отверстиями малого диаметра или в мясорубке «Latapie» и экстрагируют в течение 20 минут при постоянном встряхивании 3-кратным объемом раствора Вебера, имеющим следующий состав: 0,6М хлористого калия, 0,01М карбоната натрия и 0,04М бикарбоната натрия. После этого экстракт оставляется на 24 часа при 0°, затем центрифугируют и мышечный остаток отбрасывают. Полученный центрифугат представляет собой гель актомиозина, или миозина В. Если этот гель очень вязок, то перед центрифугированием его приходится разбавлять раствором Вебера. Более чистые препараты актомиозина получают таким же способом, но мышечную кашицу перед экстрагированием раствором Вебера предварительно многократно, промывают 0,03М KCl для удаления саркоплазматических белков.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ АКТИНА (ПО ШТРАУБУ)

Мышцы, измельченные на холоду сначала в обыкновенной мясорубке, затем в мясорубке «Latapie», экстрагируют в течение 20 минут при 0° путем встряхивания либо с раствором Вебера, либо с боратным буфером [1].

---

[1] Для приготовления боратного буфера (pH 8,6) 12,4 г борной кислоты растворяют в 100 мл 1М раствора едкого калия и затем добавляют воды до 1 литра. 800 мл этого раствора смешивают с 200 мл 2М раствора хлористого калия.

На каждые 100 г мышц берут 300 мл раствора Вебера или боратного буфера.

Смесь центрифугируют и раствор сливают. Мышечный остаток сохраняют в рефрижераторе в течение 24 часов, после чего суспендируют в 5 объемах воды и снова оставляют в течение часа при комнатной температуре. После этого смесь центрифугируют и осадок промывают тем же количеством дистиллированной воды еще раз. После второго промывания мышечный остаток обрабатывают 4 объемами ацетона при комнатной температуре и оставляют на 20 минут, после чего ацетон удаляют колированием. Остаток снова смешивают с новой порцией ацетона ($^1/_4$ объема от предыдущего) и вновь оставляют на 20 минут при комнатной температуре. Затем ацетон удаляют колированием, мышечный остаток высушивают на фильтровальной бумаге и оставляют на воздухе до удаления запаха ацетона. Полученный таким образом ацетоновый порошок может сохраняться в течение длительного времени в рефрижераторе. Раствор актина легко получается при обработке ацетонового порошка несколькими объемами дистиллированной воды. Актин переходит в водный раствор в неактивной (*Г*) форме. Он может быть легко активирован (превращен в *Ф*-форму) добавлением KCl и $MgCl_2$ до конечной концентрации 0,6М KCl и 0,0005М $MgCl_2$.

Другой метод выделения актина из скелетных мышц описан в работе Цао и Бэйли (Tsao, Bailey, 1953).

ВЫДЕЛЕНИЕ МИОЗИНА «А» ИЗ МЫШЦ

Тушку кролика помещают на лед. Мышцы быстро обрезают, измельчают в охлажденной мясорубке и экстрагируют при 0° и энергичном перемешивании стеклянной палочкой в течение 7—10 минут 3-кратным объемом буферного раствора (0,5М хлористого калия и 0,03М бикарбоната натрия). Сильно охлажденную смесь центрифугируют, после чего полученный центрифугат профильтровывают при постоянном охлаждении через бумажную мязгу. Для быстрого фильтрования удобно пользоваться водоструйным насосом. Прозрачный фильтрат выливают в 10—12-кратный объем заранее охлажденной дистиллированной воды и перемешивают стеклянной палочкой. Через 10—15 минут осадок миозина отделяют от жидкости центрифугированием. Осадок получается довольно плотный, желеобразной консистенции. К полученному осадку прибавляют $^1/_5$ объема охлажденного раствора хлористого калия (2,4М). При этом миозин растворяется. Раствор фильтруют через мязгу и фильтрат выливают в новую порцию (10-кратный объем) охлажденной до 0° дистиллированной воды; полученную мутную жидкость перемешивают и через 10 минут вновь центрифугируют. В случае самопроизвольного подкисления коллоидного раствора для дости-

жения полноты осаждения прибавляют небольшое количество кристаллического бикарбоната натрия. К полученному дважды переосажденному миозину прибавляют кристаллический хлористый калий из расчета, чтобы концентрация его в растворе составляла 0,6М. Третье осаждение проводят точно таким же образом. Трижды осажденный миозин сохраняют в рефрижераторе.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ «ИСКУССТВЕННОГО» АКТОМИОЗИНА

Для получения «искусственного» актомиозина актин переводят в раствор 10—15-минутной экстракцией водой. Суспензию фильтруют и прозрачный раствор актина активируют солями хлористого калия и хлористого магния при необходимой для этого концентрации солей в растворе (конечная концентрация — 0,6М KCl и 0,0005М $MgCl_2$).

К активированному актину приливают равный или двойной объем миозина *А*, или трижды переосажденного миозина; через несколько минут после смешения этих растворов происходит образование вязкого актомиозина, который дает сокращение и обнаруживает резкое снижение вязкости в растворах 0,6М KCl при добавлении АТФ.

ТЕХНИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ АКТОМИОЗИНОВЫХ НИТЕЙ

Раствор актомиозина набирают специальной пипеткой, заканчивающейся капилляром. Пипетку опускают в сосуд с дистиллированной водой или раствор Сент-Дьердьи (0,05М KCl и 0,001$MgCl_2$), в которые выдувают нить. Толщина нити определяется диаметром капилляра и вязкостью раствора. Для измерения сокращения нитей наиболее пригодными являются нити длиной от 2 до 4,5 мм и диаметром 0,2 мм. Эти нити переносят целлулоидным шпателем на вогнутое или обыкновенное предметное стекло, на которое заранее наносят каплю солевого раствора (0,05М KCl и 0,001М $MgCl_2$). При прибавлении 0,05 мл 1%-ного раствора аденозинтрифосфорной кислоты (концентрация АТФ в растворе должна составлять около 0,1—0,17%) нити резко сокращаются. При этом они уплотняются, становятся тонкими и темными. Изменение длины нитей наблюдаются под микроскопом при помощи объектива с микрометром.

ПОЛУЧЕНИЕ ОЧИЩЕННОГО МИОЗИНА

Мышцы задних конечностей убитого путем обескровливания кролика тщательно очищают от жировой и соединительной ткани, охлаждают на льду и пропускают два раза через предварительно охлажденную мясорубку. Фарш заливают 3-кратным объемом раствора Вебера. Полученную мышечную кашицу энергично перемешивают на холоду в течение 7 минут и затем

центрифугируют 15—20 минут при 3000 об/мин. К центрифугату добавляют 10 объемов холодной воды и pH раствора доводят до 6,8 добавлением 0,5%-ной уксусной кислоты. Выпавший осадок белка через 2—3 часа отделяют центрифугированием и промывают один раз холодной водой. К осадку постепенно добавляют 0,02М раствор K_2CO_3 (содержащий 10 мл 1%-ного фенолфталеина в 1 л) при тщательном перемешивании до получения стойкого розового окрашивания (pH 8,3). Затем добавляют 2М раствор KCl до конечной концентрации 0,5М. Полученный раствор разводят в 10 раз водой комнатной температуры, предварительно подщелоченной K_2CO_3 до слабо-розового окрашивания по фенолфталеину. При этих условиях миозин остается в растворе, а актомиозин выпадает в виде рыхлого осадка. Образующийся осадок актомиозина отделяют центрифугированием и отбрасывают. Опалесцирующий слабо-розовый центрифугат охлаждают и к нему добавляют равный объем холодной воды; pH раствора доводят добавлением 0,5% CH_3COOH до 7,0. При сильном перемешивании раствора происходит выпадение осадка миозина, который при хранении в рефрижераторе оседает к следующему дню, образуя студенистый слой. После отделения осадка миозина декантацией и центрифугированием от надосадочной жидкости миозин растворяют добавлением KCl до конечной концентрации 0,6М, с таким расчетом, чтобы объем раствора увеличился вдвое по сравнению с количеством осадка миозина. Небольшое количество нерастворившихся взвешенных частиц отделяют центрифугированием или фильтруют раствор через бумажный фильтр, смоченный 0,6М KCl. Таким образом получают обычно 1—1,5%-ный раствор миозина. Чистоту препарата миозина проверяют путем определения вязкости раствора миозина в вискозиметре Оствальда при взаимодействии его с АТФ. В достаточно чистых препаратах миозина вязкость не должна изменяться при добавлении АТФ или может снизиться не более, чем на 2—3%. В случае необходимости производится повторное переосаждение миозина, как указано выше.

ПОЛУЧЕНИЕ КРОЛИЧЬЕГО МИОЗИНА, НЕ СОДЕРЖАЩЕГО ПРИМЕСИ Ф-АКТИНА И АКТОМИОЗИНА

Путем воздействия высоким давлением (в интервале 1000—1 500—2 000 атм) миозин кролика можно отделить от примеси актомиозина, не снижая существенно его АТФ-азной активности. Метод основан на том, что давление порядка 1 000—2 000 атм полностью инактивирует Ф-актин, но не влияет или незначительно влияет на АТФ-азную активность миозина. Инактивация актина под давлением происходит тем полнее, чем меньше концентрация белка в растворе. При 2000 атм актиновый компонент актомиозина разрушается полностью при любом содержа-

нии белка в растворе. Однако при таком давлении может начаться и частичная инактивация миозина. В каждом отдельном случае можно подобрать наиболее выгодное соотношение между величиной давления и концентрацией белка в растворе.

Техника работы с аппаратурой для получения высокого давления: В резиновый мешочек, который помещают в канал бомбы Бреслера, заполненный ледяной водой, заливают 4—5 мл миозина. Давление постепенно поднимают и выдерживают раствор при нужном давлении в течение нескольких минут (10—15). Затем давление снижают и резиновый мешочек (палец) с миозином извлекают из канала бомбы. В полученных опалесцирующих или слегка помутневших растворах миозина определяют АТФ-азную активность по общепринятому методу. Необходимо предварительное определение АТФ-азной активности исходного раствора миозина, не подвергшегося действию высокого давления. АТФ-азную активность можно выражать либо в Q_p, либо в μг неорганического P на 1 мг N, отщепленного от АТФ за 5 минут инкубации (см. стр. 238). Полученный ферментативно активный миозин с примесью денатурированного актина можно подвергнуть переосаждению путем диализа или сильного разведения дистиллированной водой при pH 6,5. Если в растворе миозина после воздействия давления появляется муть, ее отделяют либо фильтрованием через предварительно смоченный плотный бумажный фильтр, либо центрифугированием при 16 000 об/мин.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АДЕНОЗИНТРИФОСФАТАЗНОЙ АКТИВНОСТИ МИОЗИНА

Принцип метода: Под влиянием фермента (миозина) аденозинтрифосфорная кислота (АТФ) расщепляется на аденозиндифосфорную (АДФ) и фосфорную (H_3PO_4). По нарастанию содержания неорганического фосфата судят об убыли АТФ. Постановка опыта показана в табл. 26.

После добавления трихлоруксусной кислоты все растворы охлаждают в течение 10 минут и содержимое каждой пробирки фильтруют через бумажный беззольный фильтр, не содержащий фосфора.

Цветная реакция на неорганический фосфор ставится с 2 мл трихлоруксусного фильтрата. С этой целью к 2 мл трихлоруксусного фильтрата добавляют 4 мл воды, затем 1 мл смеси равных объемов 2,5%-ного раствора молибденовокислого аммония и 5N H_2SO_4 и затем 0,5 мл раствора эйконогена [1]. Проба доводится водой до 10 мл.

---

[1] Раствор эйконогена (α=1,2, 4=аминонафтолсульфоновая кислота): 0,25 г эйконогена, 15 г кислого сернистокислого натрия (биосульфита Na) и 0,5 г сернистокислого натрия (сульфита) растворяют в 100 мл воды. Перед употреблением к одному объему основного раствора добавляют четыре объема воды.

Пробирки после тщательного перемешивания содержимого ставят в термостат при 37° на 5—10 мин. Затем пробы охлаждают и колориметрируют.

Таблица 26

Ход определения аденозинтрифосфатазной активности миозина (в мл)

№№ проб	Раствор АТФ (0,5% pH—7,4)	Трихлоруксусная кислота 20%-ная	Боратный буфер (pH—8,6)	Хлористый кальций (0,03 м)	Нагревание на водяной бане при 37° 2—3 мин ↓	Раствор фермента (миозина)	Нагревание на водяной бане при 37° 5 мин ↓	Трихлоруксусная кислота (20%-ная)
1 опыт	1,0	—	1,0	0,5		1,0		0,5
1а опыт (параллельный)	1,0	—	1,0	0,5		1,0		0,5
2 контроль	1,0	0,5	1,0	0,5		1,0		—
2а контроль (параллельный)	1,0	0,5	1,0	0,5		1,0		—

Для получения калибровочной кривой используются различные разведения стандартного раствора фосфата [0,05 мг P (KH_2PO_4) в 1 мл]. На оси абсцисс обычно откладывают количество фосфата в мг, на оси ординат — величину ε (экстинкцию).

АТФ-азную активность выражают либо в μг P, отщепляемого 1 мг белка за 5,10 или 60 минут, либо в Q_p. Содержание белка в растворе миозина определяют по методу микро-кьельдаля или колориметрически по Лоури.

$$Q_p = \frac{a \cdot \frac{22,4}{31} \cdot 60}{b \cdot 6,25 \cdot t}$$

где a — прирост P в микрограммах за время инкубации; b — содержание N в мг/мл белкового раствора; t — время инкубации в минутах; $\frac{22,4}{31}$ — коэффициент для пересчета 1 μг P на мм³ условного газа; 6,25 — коэффициент для пересчета мг N на мг белка; Q_p — количество ортофосфата (в μг P), выраженное в кубических миллиметрах условного газа, отщепляемого 1 мг белка за 60 минут.

ПОЛУЧЕНИЕ КРОЛИЧЬЕГО ТРОПОМИОЗИНА (ПО БЭЙЛИ)

Кристаллический тропомиозин может быть получен по следующей прописи: измельченную мышечную ткань (кролика) экстагируют в течение 30 минут равным объемом дистиллированной воды. Осадок отделяют центрифугированием и центрифугат, содержащий саркоплазматические водорастворимые белки, отбра-

сывают. К осадку добавляют равный объем этанола. После тщательного перемешивания кашицы со спиртом спирт отделяют центрифугированием, а обезвоженный мышечный остаток, после вторичной экстракции тем же объемом спирта, заливают спирто-эфирной смесью (1 : 1). Спирто-эфирную смесь заменяют затем чистым эфиром, эфир отделяют фильтрованием и получают сухой мышечный остаток. К 100 г сухого остатка приливают 700 мл 1 М KCl с pH 7,0 и оставляют стоять при комнатной температуре на 12 часов. За это время в раствор переходит тропомиозин и часть актомиозина. Осадок отделяют центрифугированием от раствора и снова обрабатывают 700 мл 1 М KCl с pH 7,0 в течение 1—2 часов при 20°. Жидкость отделяют центрифугированием от осадка и присоединяют к основному KCl—экстракту; осадок отбрасывают. Полученный вязкий раствор, содержащий все количество экстрагированного тропомиозина, подкисляют 1 М HCl до pH 4,3 и оставляют стоять 60 минут. При этом в осадок выпадает тропомиозин с примесью других белков (возможно денатурированного актина или актомиозина). Надосадочную жидкость отделяют центрифугированием и отбрасывают. Осадок обрабатывают 5 объемами дистиллированной воды с pH 7,0 и получают таким путем раствор тропомиозина. Весь объем жидкости вместе с осадком смешивают с насыщенным раствором сернокислого аммония из расчета на каждый объем раствора тропомиозина—0,7 объема насыщенного раствора $(NH_4)_2SO_4$. При этом получают раствор сернокислого аммония 41%-ного насыщения. При таком насыщении раствора сернокислым аммонием тропомиозин в осадок не выпадает. Жидкость подвергают центрифугированию или фильтрованию и осадок, содержащий денатурированный актомиозин и белки, осаждающиеся при 41%-ном насыщении сернокислым аммонием, отбрасывают.

К центрифугату (фильтрату) добавляют кристаллический $(NH_4)_2SO_4$ до получения раствора 70%-ного насыщения. При этом в осадок выпадает тропомиозин. Надосадочную жидкость отделяют фильтрованием и отбрасывают. Осадок тропомиозина снова растворяют в дистиллированной воде и подвергают диализу для удаления $(NH_4)_2SO_4$. Диализ ведут против воды, подкисленной HCl до pH 4,5. При этих условиях тропомиозин выпадает в осадок. Надосадочную жидкость отфильтровывают или отделяют центрифугированием и отбрасывают, а осадок тропомиозина снова растворяют в воде при pH 7,0. С целью дальнейшей очистки тропомиозина высаливание сернокислым аммонием повторяют. Осажденный $(NH_4)_2SO_4$ тропомиозин в форме влажной пасты может длительно сохраняться в рефрижераторе.

Для получения тропомиозина в кристаллической форме водный раствор белка медленно диализируют на холоду против раствора сернокислого аммония 70%-ного насыщения. При этом в коллодийном мешочке получается через несколько дней тропомиозин в форме характерных кристаллов (см. рис. 13).

ПОЛУЧЕНИЕ МИОФИБРИЛЛЯРНОГО ВОДОРАСТВОРИМОГО БЕЛКА ЦАО

Спинные мышцы или мышцы задних конечностей кролика вырезают, охлаждают на льду и измельчают пропусканием через мясорубку (диаметр отверстия 4 мм). Полученную мышечную кашицу помещают в мешок из бумажной ткани промывают в проточной воде в течение 3—4 часов для удаления саркоплазматических белков. Промытую мышечную ткань снова измельчают и продолжают отмывание в проточной воде еще 2—3 часа пока не получают совершенно бесцветную массу. Отмытую таким образом кашицу отжимают досуха и затем экстрагируют при температуре около 1° двойным объемом цитратного буфера с pH 5,1 (0,5 М лимоннокислый натрий, 0,5 М NaCl+100 мл концентрированной HCl, уд. веса 1,18, на 5 литров раствора). Смесь оставляют, время от времени помешивая, на 1 или 2 дня, периодически проверяя pH раствора. В случае необходимости pH доводят до исходного значения (5,1). Затем отжимают раствор через бумажную ткань, мышечный остаток смачивают тем же буферным раствором и снова отжимают в мешочке досуха. Отжатую жидкость сливают с основным цитратным экстрактом. К полученному раствору прибавляют кристаллический сернокислый аммоний до 10—15%-ного насыщения. При этом образуется заметный осадок, который отделяется фильтрованием через бумажный фильтр и отбрасывается. Затем к фильтрату снова добавляют $(NH_4)_2SO_4$ до 80%-ного насыщения. Выпавший белок отделяют фильтрованием на бухнеровской воронке. Полученную массу, в состав которой входит два белковых компонента, растворяют в воде и диализируют против холодной воды (0—1°), содержащей нейтрализованную аскорбиновую кислоту (40 мг/мл).

Через два дня появляется осадок, который отделяют и промывают небольшим объемом холодной воды, содержащей нейтрализованную аскорбиновую кислоту (см. выше). Промывные воды присоединяют к основному фильтрату. В жидкости на этой стадии очистки находится водорастворимый белок Цао и лишь следы тропомиозина и другого мало изученного водонерастворимого белка. Белок Цао снова осаждают сернокислым аммонием; полученный осадок растворяют в воде и к раствору очень медленно при постоянном помешивании приливают насыщенный раствор сернокислого аммония, забуференного до pH 5,1 0,1 М лимонной кислотой. Добавление сернокислого аммония продолжают до выпадения заметного осадка. Этот осадок отделяют центрифугированием или фильтрованием. В надосадочной жидкости остается чистый электрофоретически гомогенный водорастворимый белок Цао.

Его можно затем осадить сернокислым аммонием и сохранять длительное время в форме пасты в холодильнике.

СХЕМА ФРАКЦИОНИРОВАНИЯ МЫШЕЧНЫХ БЕЛКОВ
(по И. И. Иванову с сотр.)

Навеска мышц (обычно 1—2 г)

↓ Определение общего азота

↓ Измельчение на замораживающем микротоме (толщина срезов: 20—40 μ) или ножницами с растиранием с кварцевым песком

↓ Экстракция: 2 раза по три часа и 1 раз в течение одного часа 10-кратным объемом 0,03 М фосфатного буфера, pH 7,4

↓ Экстракт мышц с низкой ионной силой (саркоплазматические белки+ +остаточный азот)

↓ Определение остаточного азота

↓ Определение общего азота

↓ Остаток мышечной ткани (миофибриллярные белки+белки стромы)

↓ Экстракция: 1 раз 20 час. раствором Вебера;

1 раз 2 часа раствором 0,6М KCl +АТФ (2 мг/г мышц)

1 раз 1 час раствором Вебера

↓ Экстракт мышц с высокой ионной силой (миофибриллярные белки)

↓ Определение общего азота[1]

↓ Разведение: в 15 раз водой при pH 6,8

↓ Осадок (актомиозин, миозин)

↓ Определение общего азота

↓ Надосадочная жидкость (миофибриллярные белки, растворяющиеся в растворах с низкой ионной силой—фракция *T*)

↓ Определение[1] общего азота

↓ Остаток мышечной ткани (белки стромы)

↓ Определение общего азота

---

[1] Здесь вводится поправка на содержание азота АТФ.

Белок Цао находится в мышечной ткани в количестве, превышающем примерно в два раза количество тропомиозина. Выход этого белка (белка Цао) колеблется около 0,2 г на 100 г мышцы.

ФРАКЦИОНИРОВАНИЕ МЫШЕЧНЫХ БЕЛКОВ ПО И. И. ИВАНОВУ С СОТР. (1959)

Для определения содержания саркоплазматических и миофибраллярных белков, а также белков стромы в различных типах мышц Иванов и сотрудники (1959) проводили фракционирование по схеме, приведенной на стр. 241.

ПОЛУЧЕНИЕ «КЛЕТОЧНЫХ МОДЕЛЕЙ»

Получение экстрагированных глицерином сперматозоидов лягушки по модифицированному методу Гофмана-Берлинга. Получение глицериновых моделей, или точнее клеточных трупов, сохраняющих контрактильные неденатурированные белки, хорошо удается при работе со сперматозоидами лягушки при применении описанной ниже методики.

Сперматозоиды, полученные из семенников весенних самцов лягушек, взвешиваются в 0,1%-ном растворе NaCl. Раствор можно слегка забуферить 0,01 М фосфатным буфером (Na_2HPO_4/KH_2PO_4) с pH 7,0. Наличие хорошей подвижности у спермиев лягушки в этом растворе устанавливается под микроскопом. В опыт можно брать лишь семенники лягушек, содержащих сперму с очень хорошей подвижностью.

Размельченную ткань семенников убитой лягушки заливают 2—3 объемами 50%-ного водного глицерина и помещают в рефрижератор на 24 часа. После этого каплю глицериновой суспензии «трупов спермиев» смешивают с 2—3 каплями раствора 0,12 М KCl+0,01 М фосфатного буфера (pH 7,0) +0,005 М $MgCl_2$ и через несколько минут к полученной суспензии спермиев на предметном стекле добавляют каплю нейтрализованного (pH 7,0) раствора АТФ. Возобновление подвижности сперматозоидов (обычно не всех) наблюдают под микроскопом.

Получение «трупов» ресничек мягкого нёба, способных к движению в присутствии АТФ, см. литературу (В. Я. Александров и Н. И. Арронет, 1956).

ГЛАВА XVI

ЭЛЕКТРОФОРЕЗ МЫШЕЧНЫХ БЕЛКОВ

Электрофоретическое изучение мышечных белков, давшее ценные сведения о фракционном составе и некоторых свойствах миофибриллярных и саркоплазматических белков, впервые было проведено в лаборатории Дюбюиссона в 1945 г. В настоя-

щее время этот метод анализа мышечных экстрактов получил широкое распространение. Особенности ряда физико-химических свойств мышечных белков — склонность к полимеризации, комплексообразованию, быстрая денатурация при несоблюдении определенных стандартных условий, большая вязкость растворов при сравнительно небольшой концентрации в них белков и др. — обусловили определенные трудности их электрофоретического изучения. Дюбюиссоном и сотрудниками, а также рядом других исследователей эти трудности в значительной степени были преодолены.

При помощи свободного электрофореза в мышечных экстрактах удается обнаружить более пятнадцати отдельных компонентов, отличающихся по своим изоэлектрическим точкам и, следовательно, имеющих различную подвижность в электрическом поле. Значительная часть этих компонентов идентифицирована с такими изученными ранее мышечными белками как миозин, актомиозин, белки миогеновой фракции, миоальбумин и др. Электрофоретическая картина белковых экстрактов, полученных из мышечной ткани при соблюдении определенных условий опыта, зависит также от состава и концентрации экстрагирующих солевых растворов, времени экстракции и объектов исследования. Выявлены особенности фракционного состава мышечных белков в разных типах мускулатуры при различных функциональных состояниях, изменения фракционного состава в фило- и онтогенезе, при разнообразных формах мышечной патологии и др.

Одним из недостатков свободного электрофореза, как известно, является необходимость работать со значительным количеством раствора белков. При использовании приборов типа Тизелиуса-Свенссона для одного опыта необходимо иметь не менее 10 мл белкового раствора, при работе с прибором Антвейлера требуется не менее 1—2 мл раствора. Получение такого количества раствора из микрообъектов, например из мышц насекомых, одиночных мышечных волокон или небольших групп мышечных волокон в высшей степени сложно. Это затруднение может быть преодолено при помощи зонального микроэлектрофореза, для проведения которого требуется значительно меньшее количество исследуемого материала. Из различных приемов зонального электрофореза наибольшее распространение, особенно для определения фракционного состава белков плазмы или сыворотки крови, как известно, получил электрофорез на бумаге. В 1953 г. Мариани и Тосчи (Mariani, Toschi) изучили возможность использования бумажного электрофореза белков мышечных экстрактов и разработали условия для его проведения. Этими же авторами была дана сравнительная оценка данных свободного и бумажного электрофореза и установлена одинаковая последовательность перемещения в электрическом поле отдельных электрофоретических фракций

в том и другом случае за исключением актомиозиновой фракции. Последняя в отличие от свободного электрофореза в силу адсорбции остается на бумаге на месте нанесения. Несколько позднее бумажный электрофорез был применен для изучения фракционного состава мышечных белков И. И. Ивановым, В. А. Юрьевым, В. В. Кадыковым и др. (1956, а и б); Б. С. Касавиной и Ю. М. Торчинским (1956), а также Хетеньи (Hetenyi, 1956) и др.

МЕТОДИКА ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ МЫШЕЧНЫХ БЕЛКОВ

Одним из существенно важных моментов, обусловливающих успешное проведение электрофореза мышечных белков, является получение пригодных для этой цели белковых растворов, которые обычно получают путем экстракции белков из гомогенатов мышечной ткани.

Получение гомогенатов мышечной ткани. Охлажденную на льду или в рефрижераторе при температуре 0—4° мышечную ткань освобождают от крови обмыванием холодной дистиллированной водой, подсушивают фильтровальной бумагой, ножницами удаляют сухожилия, фасции и жировую ткань и после этого подвергают размельчению. Если для определения содержания ряда лабильных соединений, например фосфорных эфиров, а также для определения активности некоторых ферментов желательно максимально сократить промежуток времени между моментами умерщвления животного или взятия у него кусочка мышечной ткани и приготовлением гомогената, то при получении экстрактов белков для последующего электрофоретического изучения этот фактор имеет менее существенное значение. Специально проведенное нами исследование, а также данные других авторов (Б. С. Касавина и Ю. М. Торчинский, 1956), показали, что фракционный состав мышечных белков практически не меняются в течение многих часов и даже через сутки после смерти животного при условии нахождения мышцы в рефрижераторе. Размельчение ткани можно осуществить различными приемами: наиболее простым, но одновременно и наиболее несовершенным приемом является гомогенизация ткани при помощи мясорубки или ножниц. Из мышечной ткани в этих случаях, экстрагируется наименьшее количество белков. Разумеется, степень измельчения ткани полностью зависит от тщательности выполнения операции. Можно получить неплохой гомогенат и этим путем. Довольно распространенным приемом является размельчение ткани растиранием ее с чистым кварцевым песком. Отрицательным моментом здесь является возможность нагревания ткани в процессе интенсивного растирания. Возможно именно этим обстоятельством объясняется тот факт, что ферментативная активность гомогенатов, полученных таким путем,

в ряде случаев оказывается более низкой, чем при измельчении ткани другими приемами. Значительно более быстро и тщательно происходит размельчение ткани при применении специальных гомогенизаторов. Однако и здесь трудно исключить некоторое нагревание ткани в связи с большой скоростью вращения размельчающего снаряда. Кроме того, гомогенизаторы такого типа требуют довольно значительных количеств материала. Для малых количеств мышечной ткани можно с успехом применить гомогенизаторы очень простой конструкции. Толстостенная, с коническим дном пробирка имеет шероховатую, сделанную грубой наждачной бумагой внутреннюю поверхность. Второй составной частью прибора является стержень, сделанный из цельного стекла и имеющий на конце конус, полностью соответствующий форме дна пробирки. Поверхность конуса также делается шероховатой. Вращением стержня можно добиться чрезвычайно тонкого размельчения очень небольших количеств ткани (менее 0,1 г). Последующая экстракция белков может быть произведена в той же пробирке. Все перечисленные приемы получения гомогенатов проводятся в условиях низкой температуры (0—4°). Вероятно, одним из наиболее совершенных методов гомогенизации мышечной ткани является применение замораживающего микротома, приспособленного для получения ультратонких срезов (~ 15—20—40 μ). В этом случае следует обратить внимание на то, чтобы в процессе замораживания ткани не произошло ее загрязнения посторонними веществами.

Экстрагирование мышечных белков

В зависимости от поставленной задачи для экстракции белков применяются различные растворы солей. Для извлечения так называемых легкорастворимых белков[1] используется, однако, не дистиллированная вода, а слабые солевые растворы, например 0,03 М KCl или фосфатный буфер с ионной силой 0,1 и pH 7,4. Последний раствор неудобен в случаях необходимости последующего определения содержания неорганического фосфата, например при определении аденозинтрифосфатазной активности растворимых мышечных белков. Разумеется, могут быть использованы и другие нейтральные солевые растворы с ионной силой μ не свыше 0,15. Для лучшей экстракции и для предотвращения денатурации белков предпочтительнее применять слабощелочные растворы. Существенное значение имеет время, в течение которого производится экстракция. Часто применяют 1—2—3-часовые экстракции, однако при необходимости наиболее полного извлечения водорастворимых белков эту опе-

[1] То есть белков, растворимых в солевых средах с низкой ионной силой. Часть белков этой группы (глобулины) может быть нерастворимой в чистой воде.

рацию повторяют 2—3 раза; в этом случае в последнем экстракте содержание белков обычно оказывается очень низким. Поскольку для электрофореза желательно получать относительно концентрированные белковые растворы (не менее 1%) стараются по возможности ограничить количество экстрагирующего раствора. Наиболее часто применяют 2-часовую экстракцию 1,5—2 объемами солевого раствора.

Для экстракции контрактильных белков используют солевые растворы с высокой ионной силой 0,5—0,6 М KCl, или же KI, или же раствор Вебера (KCl 0,6 М, $NaHCO_3$ 0,04 М и Na_2CO_3 0,01 М). При кратковременной (5—10—20 мин.) экстракции извлекается преимущественно миозин, при более длительной экстракции одновременно с миозином извлекается и актин. После 18-часовой экстракции контрактильные белки на электрофотограмме представлены одним пиком, соответствующим актомиозину. Для получения нужной для электрофореза концентрации белков применяют 3—5-кратное по отношению к весу гомогената количество солевого раствора. В зависимости от поставленной задачи предварительно проводят экстракцию водорастворимых саркоплазматических белков, а затем уже из оставшейся ткани извлекают контрактильные белки или же концентрированными растворами солей сразу извлекают обе группы белков. Экстракцию белков во всех случаях проводят при низкой температуре. В некоторых случаях для более полной экстракции «трудно растворимых» белков к 0,6 М раствору KCl или к раствору Вебера добавляют АТФ из расчета 2 мг на 1 г ткани. Для полноты извлечения белков большое значение имеет тщательное перемешивание гомогената во время экстракции. Наиболее эффективно использование механической стеклянной мешалки с лопастями при сравнительно небольшом числе оборотов во избежание разбрызгивания раствора. Периодическое помешивание или экстракция без перемешивания резко снижает количество извлекаемых белков.

Осветление экстрактов. Получить четкую электрофореграмму при электрофорезе мышечных белков часто оказывается трудно из-за мутности получаемых растворов. Особенно это касается белковых жидкостей, получаемых экстракцией солевыми растворами с высокой ионной силой. Фильтрование через бумажный фильтр в этих случаях обычно не дает эффекта. Наиболее удобным приемом является центрифугирование при большом числе оборотов (~10 тыс. об/мин). Целесообразно использовать центрифугу с охлаждением. С несколько меньшим успехом применяется фильтрование мутного раствора через слой бумажной мязги, предварительно тщательно промытой дистиллированной водой и затем соответствующим солевым раствором. Фильтрование раствора производится путем отсасывания с помощью водоструйного или вакуум-насоса на бюхнеровской воронке. Иногда полезно операцию повторить с тем же раствором

несколько раз. С успехом может быть применен аппарат для осветления мутных растворов, изготовленный шведской фирмой LKB. Камеры аппарата отделены друг от друга плотной фильтровальной бумагой. В две боковых камеры барабана аппарата наливается мутный белковый раствор, в среднюю камеру солевой раствор, при помощи которого осуществлялось экстрагирование. Растворимый белок легко проникает через бумажные мембраны, которые в то же время задерживают мельчайшие взвешенные частицы, обусловливающие мутность. Установление равновесия концентрации растворенных веществ ускоряется благодаря большей поверхности мембран и перемешиванию раствора при постоянном вращении барабана. Преимущество описанного приема перед обычным фильтрованием заключается в отсутствии разности давлений, способствующей возможности прохождения через бумагу взвешенных частиц и в удалении с поверхности бумаги этих частиц во время перемешивания, благодаря чему последние не мешают прохождению через бумагу компонентов раствора.

Несомненный интерес для изучения состава и свойств саркоплазматических белков представляют приемы получения мышечного сока или так называемой «мышечной плазмы». Эти приемы, в свое время разработанные и описанные Кюне, Фюртом, Смитом и др. (Kühne, 1864; Fürth, 1895; Bate-Smith, 1937) в настоящее время применяются редко. Мышечная плазма может быть получена из предварительно замороженной твердой углекислотой и нарезанной тонкими стружками или размятой в «снег» мышечной ткани. Измельченная указанным способом ткань помещается в мешочек из плотного материала (полотно, бязь), закладывается в пресс-форму и выпрессовывается под давлением около 60 атм. Применять более высокое давление или же сразу создавать относительно большое давление не рекомендуется, так как мешочек рвется и мышечная ткань выдавливается через отверстия пресс-формы. Пресс-форма перед началом опыта сильно охлаждается в рефрижераторе. Из 10 г мышечной ткани можно легко получить 2—3 мл мышечной плазмы.

Свободный электрофорез мышечных белков

Наибольшую трудность, как уже было отмечено ранее, представляет получение достаточно концентрированных и в то же время прозрачных (обычно слегка опалесцирующих) белковых растворов. До начала опыта белковый раствор подвергают диализу против буферного раствора, в котором ведут электрофорез. Эта процедура необходима в связи с тем, что мышечная ткань, обладая значительным буферным действием, несколько изменяет pH солевого раствора, применяемого для экстракции белков. При электрофорезе различие в ионной силе и pH экстракта и буферного раствора, с которым приводится опыт, может

явиться причиной возникновения аномальных градиентов концентрации и привести к недостаточно четкому разделению белковых фракций. Диализ ведут на холоду в течение суток при помешивании, сменяя два-три раза буферный раствор. В качестве диализаторов удобно использовать коллодийные или еще лучше целлофановые мешочки, предварительно убедившись в их достаточной прочности и целости. Использование коллодийных мешочков для диализа нередко ведет к потере части белкового материала. Коллодийная мембрана, по-видимому, является проницаемой не только для безбелковых экстрактивных веществ и солей, но и для части некоторых белков.

Электрофорез легко растворимых белков обычно проводят в фосфатном буферном растворе с ионной силой 0,1—0,15 при слабо щелочной реакции (pH 7,4—7,8). Несколько меньшая скорость миграции белков наблюдается при применении буферных растворов, имеющих слабокислую реакцию (pH 6,4—6,8). Для электрофореза миофибриллярных белков используются фосфатные буферные растворы с ионной силой 0,35—0,5 и pH 7,4—7,8. Сама техника электрофореза не отличается от общепринятой, она подробно описана в ряде статей и руководств (Свенссон, 1949; Г. В. Троицкий, 1954; и др.). Следует отметить, что электрофорез мышечных белков обычно проводят более длительное время, чем электрофоретическое разделение белков плазмы или сыворотки крови (от 4 до 18 и в отдельных случаях даже до 30 часов), при градиенте потенциала от 1,2 до 4 *V* см/сек. Примененные в этих опытах буферные растворы имеют следующий состав:

Na_2HPO_4—0,048*M*; NaH_2PO_4—0,006*M*—μ—0,15, pH7,4

Na_2HPO_4—0,048*M*; NaH_2PO_4—0,006*M*—NaCl—0,2*M*—μ0,35,pH7,4.

При помощи свободного электрофореза в аппарате типа Тизелиуса — Свенссона можно добиться удовлетворительного разделения основных белковых фракций, полученных экстракцией солевыми растворами с высокой ионной силой и за более короткое время — 4—5 часов (И. И. Иванов, В. Д. Блохина, 1955; И. И. Иванов, В. А. Юрьев, В. В. Кадыков, Б. М. Крымская, С. Е. Тукачинский и В. П. Моисеева, 1956; М. Ф. Бондаренко, 1954; и др.).

Электрофорез мышечных белков на бумаге

Как известно, одним из серьезных недостатков электрофореза на бумаге является возможность адсорбции на бумаге некоторых белков.

Это обстоятельство затрудняет разделение белковых компонентов и служит причиной дополнительного фона при окраске бумажных электрофореграмм. Именно к таким, легко адсорби-

рующимся на бумаге белкам следует отнести белки «актомиозинового комплекса». Электрофоретическая картина белковых экстрактов, полученных солевыми растворами с высокой ионной силой, так же как и при свободном электрофорезе, представлена двумя пятнами (полосами), соответствующими актомиозиновой и миогеновой фракциям. Однако в отличие от свободного электрофореза при электрофорезе на бумаге актомиозиновая фракция остается на месте нанесения, в то время как белки миогеновой группы заметно перемещаются к аноду. Дифференцировка миогеновой фракции в этих условиях обычно выявляется плохо. Пятно миоальбумина в силу относительно малого содержания этого белка отсутствует или выражено очень слабо. При описании методических приемов электрофореза здесь, как и в других случаях, представлена типичная электрофоретическая картина фракционного состава белков поперечнополосатых мышц взрослого животного. Белковый состав экстрактов мускулатуры других типов — сердечной, гладкой, эмбриональной, а также патологически измененной мышечной ткани — имеет существенные отличия.

Мышечные белки, экстрагированные солевыми растворами с низкой ионной силой на бумажной электрофореграмме обычно дают три пятна, содержащие описанные Джекобом компоненты n, m, l, k_1, k_2 и др. Наиболее подвижная фракция, несомненно, является миоальбумином. В состав среднего пятна входят компоненты k_1, k_2 (фосфорилазы a и b). Местоположение остальных компонентов (n, m, l) на бумажной электрофореграмме остается не вполне ясным. Можно думать, что в состав наиболее близкого к стартовой линии пятна во всяком случае входят компоненты n и m. Условия электрофоретического разделения мышечных белков имеют свои особенности по сравнению с электрофорезом других белков, в частности белков сыворотки крови. Прежде всего, это касается применяемых буферных растворов. При электрофорезе мышечных белков, полученных экстракцией солевыми растворами с высокой ионной силой, используют фосфатные буферные растворы с pH 7,6—7,8 и ионной силой 0,35—0,4. Лучшее разделение водорастворимых белков, т. е. белков, полученных экстракцией слабыми растворами солей, достигается при pH 6,4—6,8 и ионной силе 0,1—0,15. С успехом могут быть применены и буферные растворы с меньшим значением pH. Так, по данным В. В. Кадыкова (И. И. Иванов, В. В. Кадыков, В. А. Юрьев, 1959), полученным в нашей лаборатории, для разделения белков мышечной плазмы оптимальным является буферный раствор, имеющий pH 5,8 и ионную силу 0,3. Разумеется, для получения сопоставимых результатов при проведении электрофореза необходимо строгое соблюдение выбранных условий опыта. В связи с тем, что солевые экстракты имеют сравнительно невысокое и не всегда постоянное содержание белков, количество наносимого на бумагу раствора варьирует от одной

до нескольких сотых миллилитра. Во избежание денатурации белков при их высыхании целесообразно наносить на бумагу необходимое количество раствора одномоментно, а не в несколько приемов. Бумагу предварительно смачивают буферным раствором, в котором будет проводиться электрофорез, и белковый раствор наносят на еще влажную полоску бумаги. Наносить раствор на бумагу удобно шлифованной стеклянной или целлулоидной пластинкой. Отмеривание раствора производится обычной микропипеткой с оттянутым концом. Электрофорез продолжается 12—18 часов при градиенте потенциала 4—6 *V* см/сек и силой тока 0,8 mA на 1 см сечения (поперечного размера) бумажной полосы. После окончания электрофореза бумажные полоски высушиваются на воздухе и затем прогреваются в сушильном шкафу 5—15 минут при температуре 105°. Окраска электрофореграмм осуществляется обычными приемами бромфеноловым синим. Окраска красителем амидошварц, по нашим данным, не имеет сколько-нибудь заметных преимуществ. Определение количественного содержания белковых фракций производят либо путем фотометрии извлеченного из определенных участков электрофореграмм красителя, либо при помощи прямой денситометрии бумажной полосы. Применение автоматических устройств, сразу дающих графическое изображение плотности окраски различных участков электрофореграммы, значительно упрощает работу. Следует отметить, что оценка количественного содержания отдельных белковых фракций, основанная на определении количества связанного красителя, не является точной, поскольку адсорбционная способность по отношению к данному красителю у различных мышечных белков может быть весьма различной. Данных по сравнительной характеристике адсорбционных свойств различных мышечных белков в настоящее время еще не имеется. Недостаточно обоснованной является также попытка судить о содержании ферментов по изменению количества той или иной белковой фракции, в состав которой входит этот фермент. Количественные изменения отдельных компонентов белковой фракции могут не соответствовать сдвигам в содержании других ее компонентов и всей фракции в целом.

Техника электрофореза на бумаге

Аппаратура, необходимая для проведения электрофореза на бумаге сравнительно несложна и состоит из трех основных узлов: 1) электрофоретической камеры, 2) источника питания электрическим током и 3) регистратора для расшифровки электрофореграмм.

Предложены разнообразные конструкции каждого из указанных узлов. Удобная модель аппарата для электрофореза типа ЭФА-1 выпускается в настоящее время заводом физических

приборов в г. Фрунзе. Ниже приводится краткое описание этого прибора (аппарата) и техника работы с ним.

Электрофоретическая камера, в которой ведется разделение исследуемого объекта на составные фракции, представляет собой фигурный сосуд из стекла, вмещающий рамку для крепления бумажных полосок и два съемных резервуара для буферного раствора. Камера накрывается тремя раздельными крышками: двумя малыми, располагающимися по краям, и большой, прикрывающей среднюю часть сосуда.

Малые крышки изготовлены из пластмассы. В них вмонтированы по пять угольных электродов, связанных между собой металлической пластинкой, снабженной клеммой для подводки напряжения. Крепление угольных электродов в крышке осуществляется цанговыми зажимами, что обеспечивает надежный контакт и позволяет просто производить замену углей при выходе их из строя.

Стеклянной крышке, прикрывающей среднюю часть камеры, придана форма «двускатной крыши», верхние плоскости которой расположены под углом 130°. Такая конструкция создает условия для стока конденсата, образующегося на внутренней поверхности крышки от испарения буферного раствора с полос бумаги, исключая при этом возможность падения капель влаги на электрофореграмму.

Резервуары для буферного раствора разделены перегородкой на два отделения, в одном отделении помещаются электроды, в другом — концы бумажных полос. Электрическая связь между двумя отделениями осуществляется через фитильки (бумажные ленты, смоченные буферным раствором), перекинутые из одного отделения в другое. На рамке крепятся 5 бумажных полос размером 40×400 мм. Специальное устройство, состоящее из плоских пружин с держалками, поддерживает электрофореграммы в натянутом состоянии.

Электрофоретическая камера покоится на деревянной подставке с установочными винтами, позволяющими устанавливать камеру в строго горизонтальном положении.

На подставке смонтированы шнур, связывающий электрод с источником питания, и блокировочное устройство, автоматически обесточивающее камеру при снятии крышки. Вся камера легко разбирается на составные части. В ней просто производится замена вышедших из строя отдельных элементов. Плотно пригнанная крышка камеры и небольшой внутренний ее объем создают условия для образования влажной атмосферы в камере, необходимой для электрофореза на бумаге.

Источник питания состоит из двух основных элементов, скомпанованных в единый блок — выпрямителя и стабилизатора.

Схема выпрямителя представляет собой обычную двухполупериодную схему, состоящую из двух последовательно включенных выпрямителей, в которых, в качестве вентиля, применены

кенатроны. Феррорезонансный стабилизатор обеспечивает стабилизацию выходного напряжения в пределах 2% при колебании в сети 15%.

Источник питания имеет три предела выходного напряжения — 250 V, 500 V и 1000 V с плавной регулировкой в 3 диапазонах от 200 до 1000 V.

Изменение пределов напряжения осуществляется подключением соответствующих секций силового трансформатора переключателем, а плавная регулировка — изменением напряжения на сетке лампы с помощью переменного сопротивления.

Источник питания снабжен измерительными приборами — вольтметром, миллиамперметром, двумя парами клемм, дающих возможность питать две электрофоретические камеры, сигнальной лампой и предохранителем, помещенным на задней стенке прибора.

Миллиамперметр имеет две шкалы измерения 10 mA и 50 mA, переключение их осуществляется тумблером. Ручки управления источника питания размещены на передней панели прибора и имеют соответствующие надписи. Источник питания может работать от напряжения 120 и 220 вольт.

Регистратор — представляет собой самозаписывающий денситометр с чернильной записью на бумаге, шириной 170 мм с автоматической непрерывной подачей (протяжкой), расшифровываемой электрофореграммы. Он воспроизводит объективным методом графическое построение кривой электрофоретического распределения фракций исследуемого вещества.

Регистратор состоит из трех основных систем: светооптической, кинематической, электрической. Все элементы регистратора заключены в кожух. Ручки управления размещены на верхней и боковой панелях прибора. Светооптическая система сочетает в себе осветительную лампу, цилиндрическую линзу и фотосопротивления. Основным элементом кинематической системы является электрический двигатель, приводящий в движение через цилиндрический редуктор механизм лентопротяжки. Механизм лентопротяжки имеет два узла: протягивающий диаграммную бумагу и протягивающий электрофореграмму. Первый узел состоит из катушки для бумаги, протягивающего и прижимного валиков. Второй узел, помимо валиков, имеет устройство, позволяющее отключаться от механического привода и передвигать электрофореграмму вручную. Перевод на ручной привод производится перемещением выведенной для этой цели ручки вдоль ее оси. Скорость движения диаграммной бумаги и электрофореграммы одинакова — 54 мм/мин.

Техника работы. На полоску фильтровальной бумаги, смоченную буферным раствором, представляющим собой электролит с определенной величиной pH, наносится небольшое количество препарата. К концам бумажной полосы подается электрический ток постоянного напряжения.

Под воздействием электрического поля, созданного на бумажной полосе, частицы исследуемого вещества начинают передвигаться к электроду, знак которого противоположен знаку частицы, вдоль бумажной полосы. Благодаря различной электрофоретической подвижности частицы отдельных фракций исследуемого вещества за определенное время пройдут различные пути и расположатся на различных участках бумажной полосы. При этом осуществляется разделение испытуемого вещества.

Так как исследуемый препарат обычно является бесцветной или слабоокрашенной жидкостью, а для дальнейшего анализа должно быть выявлено месторасположение разделенных фракций, то для этого бумажная полоска окрашивается специальным красителем, прочно связывающимся с исследуемым веществом, а затем промывается растворителем, вымывающим краситель с участков бумаги, не содержащих фракций анализируемого вещества. После указанной обработки на бумаге появляются резко обозначенные окрашенные поперечные полосы.

Каждое пятно соответствует определенной фракции, а интенсивность его окраски определяет количественное содержание разогнанной электрофорезом фракции.

Расшифровка электрофореграммы. Проявленная электрофореграмма протягивается валиком перед узким пучком света, образованным осветительной лампой.

Световой поток, падающий на движущуюся электрофореграмму, пройдя через бумагу, попадает на фотосопротивление. В зависимости от интенсивности окраски различных участков, электрофореграммой поглощается меньшее или большее количество света. Соответственно, и на фотосопротивление попадает больше или меньше световой энергии. Фотосопротивление, которое является плечом измерительной мостовой схемы, преобразует изменения световой энергии в пропорциональные изменения электрической величины — активного сопротивления. Получающиеся изменения тока в цепи фотосопротивления измеряются в регистраторе методом автоматического уравновешивания (балансирования) напряжений. Баланс измерительной схемы достигается с помощью электронного усилителя, реагирующего на величину и знак разбаланса напряжений и управляющего реверсивным двигателем, перемещающим посредством кинематических звеньеев движок реохорда, связанный с пером, производящим запись электрофоретической кривой на бумаге.

Измерение площадей пиков производится планиметром.

Процентное содержание каждого компонента (A) равно площади пика, соответствующего данному компоненту, отнесенному к площади всей электрофоретической кривой $A = \frac{a}{S} \cdot 100\%$,

где: a — величина площади определенного пика в относительных единицах;

S — величина площади всей кривой.

Препаративный электрофорез мышечных белков на бумаге

Метод электрофореза на бумаге с успехом можно использовать и для препаративных целей. Особенно удобен этот прием, когда возникает необходимость разделения сложной смеси белков и последующего выделения компонентов смеси из минимального количества материала. Необходимым условием для выделения электрофоретически гомогенных белковых фракций является хорошее их разделение на электрофореграмме. Впрочем, это же условие является обязательным и при любом варианте зонального или свободного препаративного электрофореза. Метод препаративного электрофореза на бумаге, разумеется, может быть использован не только для выделения мышечных но и других белков.

Техника выполнения препаративного электрофореза. Раствор мышечных белков наносится не на отдельные полосы фильтровальной бумаги, как обычно, а на лист, размеры которого определяются шириной электрофоретических кювет и расстоянием между ними. Так, если ширина кюветы 26 см, а расстояние между кюветами 30 см удобно взять лист бумаги размером 24×40 см. Белковый раствор наносится сплошной линией или штрихами с интервалами в 1 см. Если на полосу бумаги шириной в 4 см наносят до 0,03—0,05 мл белкового раствора, то на весь лист легко нанести 0,2—0,3 и даже 0,5 мл раствора. Нанесение белкового раствора на бумагу осуществляется обычными приемами шлифованной пластинкой. Для того, чтобы фронт продвижения белковых фракций представлял прямую линию, карандашом прочерчивается линия старта, строго перпендикулярно к направлению миграции белков. Режим тока подбирается в соответствии с размерами бумажного листа. Желательно иметь падение напряжения не ниже 6—8 V на 1 см и силу тока около 0,7 mA на 1 см поперечника бумажного листа. При этих условиях вполне удовлетворительно разделяются как саркоплазматические, так и легкорастворимые миофибриллярные белки (белки фракции *T*).

По окончании электрофореза от еще влажного листа (электрофореграммы) с двух сторон в продольном направлении (т. е. на ходу электрофоретического разделения белков) отрезаются две полоски шириной 1—1,5 см. Полоски высушиваются, прогреваются в сушильном шкафу и проявляются красителем. Эти полоски необходимы, чтобы выявить местонахождение белковых фракций на оставшемся непроявленным листе, что легко сделать, прикладывая проявленные полоски электрофореграммы на их прежнее место.

Когда локализация отдельных белковых фракций выявлена, то соответствующие участки вырезаются в виде полос.

Следующим этапом работы является извлечение из этих полос бумаги находящихся там белков. Для извлечения белков

каждая из полученных описанным выше образом полосок бумаги одним своим концом помещается в плоский сосуд (например, чашку Петри), где находится буферный раствор, с помощью которого проводился электрофорез, или же другой солевой раствор, хорошо вымывающий белки, но не вызывающий денатурации последних. Остальная часть полоски свободно свешивается вниз. Нижний конец полоски обрезается с двух сторон, так чтобы образовался острый угол. Для стекающего с этого конца раствора белка подставляется пробирка. Во избежание высыхания бумажной полосы все приспособление закрывается колпаком или другим стеклянным сосудом и оставляется на 18—24 часа. За это время обычно весь белок вымывается из бумаги. Полученный объем раствора составляет около 5 мл.

При необходимости получения больших количеств белка можно использовать несколько электрофореграмм. Сгущение раствора осуществляется обычными приемами лиофильной сушки.

ЛИТЕРАТУРА

Агол В. И. Вопр. мед. химии, 1953, 5, 122.

Агол В. И. О некоторых сторонах взаимодействия актомиозина с аденозинтрифосфорной кислотой. Автореф. дисс. Москва, 1954.

Агол В. И. Усп. совр. биол., 1955, 30, 77.

Аладжалова Н. А. Докл. АН СССР, 1950, 71, 45.

Аладжалова Н. А. и Маслов Н. М. Докл. АН СССР, 1957, 115, 407.

Аладжалова Н. А. и Мерцалова С. Н. Докл. АН СССР, 1954, 44, 81.

Аладжалова Н. А. и Мерцалова С. Н. Биофизика, 1958, 3, в. 1, 23.

Александров В. Я. и Арронет Н. И. Докл. АН СССР, 1956, 110, 457.

Асмолова Е. Н. Бюлл. эксп. биол. и мед., 1936, 1, 118; 1936, 1, 120.

Баев А. А. Доклад на конференции по фосфорилированию ИЭМ. Л., 1959.

Баранова Н. Ф. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1953, 4, 29.

Барбашова З. И. Тр. Ин-та физиол. им. И. П. Павлова, т. 4, Л., 1949, 299.

Белицер В. А. Химические превращения в мышце. М.—Л., Медгиз, 1940.

Белицер В. А., Зюкова М. А. и Фальк А. Ф. Биохимия, 1937, 2, 28.

Белицер В. А. и Цыбакова Е. Т. Биохимия, 1939, 4, 518.

Беритов И. С. Доклад на Всесоюзн. съезде физиологов в Харькове. 1930.

Беритов И. С. Общая физиология мышечной и нервной системы. Т. 1, изд. 2-е. Изд-во АН СССР, 1947.

Беритов И. С. Общая физиология мышечной и нервной систем. 3-е изд., т. 1, М., Медгиз, 1959.

Боголепов Н. К., Давиденков С. Н., Раздольский И. Я. Триумфов А. В., Филимонов И. Н. Нервные болезни. М., Медгиз, 1956.

Богомолец А. А. Эссенциальная гипертония. М.—Л., 1929.

Бондаренко М. Ф. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1954, 38, 9.

Борсук В. Н., Вербжбинская Н. А., Крепс Е. М., Стрельцов А. В. Физиол. журн. СССР, 1948, 24, 70.

Браун А. Д. и Мирович Н. И. Вопр. мед. химии, 1956, 2, 188.

Браунштейн А. Е. Некоторые черты химической интеграции процессов азотистого обмена. Докл. на заключит. пленарн. засед. IV междунар. биохим. конгр., Вена, 1958.

Бурнашева С. А. Реф. научно-исслед. раб. М., изд. АН СССР, 1947, 372.

Бэйли К. Структурные белки. В кн.: Белки. Под ред. Г. Нейрата и К. Бэйли, т. III, М., 1959.

Вальдман В. А. Zs. f. exp. Med., 1923, Bd. 35, H. 4—6.

Вальдман В. А. Тонус сосудов и периферическое кровообращение. Л., Медгиз, 1928 и 1940.

Василевский В. М. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1944, 18, 22.

Веселкина В. М. Изв. Ин-та им. Лесгафта, 1938, 21, 33.

Верболович П. А. Материалы к функциональной биохимии миоглобина. Автореф. дисс. М., 1959.
Владимиров Г. Е. Тр. Военно-мед. акад. РККА, 1940, 22, 49.
Владимиров Г. Е. Уч. зап. ЛГУ, 1954, 32, 328.
Владимиров Г. Е., Власов В. Г., Колотилова А. И., Лызлова С. Н., Пантелеева Н. С. Биохимия, 1957, 22, 963.
Владимиров Г. Е. и Гиндоман Л. М. Биохимия, 1953, 18, 490.
Владимиров Г. Е. и Ярославцев А. Л. Тр. Военно-мед. акад. РККА, 1940, 22, 63.
Волохов А. А. и Гершуни Г. В. Тез. докл. на V съезде физиол., 1934.
Воробьев В. И. Биохимия, 1957, 22, 597.
Воронянский В. И. Укр. биохим. журн., 1956, 28, 255.
Галвяло М. Я. Тр. Военно-мед. акад. РККА, 1940, 22, 3.
Галицкая Н. А. Тр. Ин-та физиол. им. И. П. Павлова, 1949, 4, 293.
Гедевани Д. Русск. физиол. журн., 1930, 13, 28; 1933, 16, 484.
Гейман Е. Я. Физиол. журн. СССР, 1940, 28, 657.
Гейман Е. Я. и Мужеев В. А. Физиол. журн. СССР, 1939, XX, 1, 103.
Гельман И. Г. Эссенциальная гипертония. М., Медгиз, 1927.
Герасимова А. В. и Иванов И. И. Вопр. мед. химии, 1952, 5, 110.
Гершуни Г. В. Физиол. журн. СССР, 1930, XIII, 667; 1930, XIII, 129.
Гефтер Ю. М. Тр. конф. по мед. биол. Киев, 1936.
Гефтер Ю. М., Асмолова Е. Н., Гуревич Д. И., Кирьян В. М., Могилевский М. С. Тез. Всесоюзн. съезда физиол. Тбилиси, 1937.
Гефтер Ю. М. и Кирьян В. М. Биохимия, 1937, 2, 499.
Гефтер Ю. М. и Юделович Р. Я. Терап. арх., 1929, 7, 185.
Гиндоман Л. М. Энергетическая характеристика промежуточных реакций гликолиза. Автореф. дисс. Л., 1950.
Гинецинский А. Г. Физиол. журн. СССР, 1923, 6, 467 и 139; 1926, 9, 93.
Гинецинский А. Г. Физиол. журн. СССР, 1947а, 33, 413, 763.
Гинецинский А. Г. Физиол. журн. СССР, 1947б, 33, 41.
Гинецинский А. Г. и Лебединский А. В. Курс нормальной физиологии. М., Медгиз, 1956.
Гирголав С. С., Ачкасова Т. А. Хирургия, 1956, 4, 62.
Григорьева В. А. В сб.: Вопросы биохимии мышц, Киев, изд. АН УССР, 1954, 125.
Григорьева В. А. Укр. биохим. журн., 1951, XXIII, 198 и 386; 1955, XXVII, 477.
Грищенко Е. Д. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1952, 1, 44.
Грищенко Е. Д. Усп. совр. биол., 1954, 37, 279.
Грищенко Е. Д. Биохимия, 1955, 20, 173.
Грищенко Е. Д. Усп. совр. биол., 1958, 46, 259.
Грищенко Е. Д., Никитенко В. В. Вопр. мед. химии, 1956, 2, 328.
Гулый М. Ф., Дворникова П. Д., Коломийченко М. А., Попадюк Е. Я., В сб.: Вопросы биохимии мышц, Киев, изд. АН УССР, 1954, 244.
Данилевский А. Я. Zs. Physiol. Chemie, 1881, 5, 162.
Дворникова П. Д. Укр. биохим. журн., 1951, 23, 259.
Достижения кардиологии. Под ред. Р. Хегглина. М., Медгиз, 1959.
Дрейфус Ж. К., Шапира Г., Шапира Ф., Демо Ж. Вопр. мед. химии, 1958, 4, 97.
Евреинова Т. Н. Усп. совр. биол., 1947, 24, 21.
Жуков Е. Г. Уч. зап. ЛГУ, 1954, 176, 88.
Жуков Е. Г. Исследования о тонусе скелетных мышц. Л., Медгиз, 1956.
Жуков Е. Г. Физиол. журн. СССР, 1956, 17, 95.
Заалишвили М. М. и Минадзе Г. В. IX науч. конф. Горийского педиатр. ин-та, 1959, стр. 58; Биохимия, 1956, 24, 612.
Заварзин А. А. и Щелкунов С. И. Руководство по гистологии. Л., Медгиз, 1954.
Збарский И. Б. Усп. биол. химии, 1950, 1, 91.

Збарский Б. И., Иванов И. И., Мардашев С. Р. Биологическая химия. 3-е изд. М., Медгиз, 1960.
Збарский И. Б. и Перевощикова К. А. Докл. АН СССР, 1948, 60, 77.
Зеленин В. Ф. Гипертоническая болезнь, Сов. мед., 1945, 12, 1—6.
Зубенко П. М. Тез. III Украинск. съезда физиологов, биохимиков и фармакологов. Днепропетровск, 1939.
Зубенко П. М. В сб.: Раб. Днепропетровск. ин-та физиол., 1940, 3, 71, 79.
Зубенко П. М. Укр. биохим. журн., 1947, 19, 218.
Зубенко П. М. Научн. зап. Днепропетровск. гос. ун-та, 1948, 32, 253.
Зубенко П. М. В сб.: Вопросы биохимии мышц. Киев, изд. АН УССР, 1954, 135.
Зубенко П. М., Моцный П. Е., Плахотишина Е. Т. и Христич А. Д. VIII Всесоюзн. съезд физиол., биох. и фармакол., 1955.
Зубенко П. М. и Плахотишина Е. Т. Укр. биохим. журн., 1950, 22, 384.
Зубенко П. М., Рева А. Д. Тез. докл. VII съезда физиол., биохим., фармакол., АН СССР, 1937, 493.
Зубенко П. М., Рева А. Д. и Плахотишина Е. Т. Биохимия, 1950, 15, 79.
Иванов И. И. Физиол. журн. СССР, 1936, 20, 561.
Иванов И. И. Химическая динамика подвижных клеток. Дисс. Фрунзе, 1942.
Иванов И. И. Усп. совр. биол., 1943, 16, 627.
Иванов И. И. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1949, 5, 321.
Иванов И. И. Усп. биол. химии., 1950а, 1, 179.
Иванов И. И. Химическая динамика мышц и подвижных клеток. М., Медгиз, 1950б.
Иванов И. И. Укр. биохим. журн., 1950в, 22, 393.
Иванов И. И. В сб.: Расширенные рефераты докладов на симпозиумах IX съезда Всесоюзн. о-ва физиол., биохим. и фармакол., т. 3, М., 1959.
Иванов И. И. В сб.: Актуальные вопросы современной биохимии. Ин-т биол. и мед. химии АМН СССР, 1959, т. 1, 144.
Иванов И. И. и Агол В. И. Докл. АН СССР, 1949, 66, 1137.
Иванов И. И. и Асмолова Е. Н. Биохимия, 1950, 15, 201.
Иванов И. И., Балабуха В. С., Романцев Е. Ф., Федорова Т. А. Обмен веществ при лучевой болезни. М., 1956.
Иванов И. И., Берг Ю. Н., Лебедева Н. А. Биохимия, 1960.
Иванов И. И., Берг Ю. И., Жахова З. Н., Лебедева Н. А., Лопатина Н. И., Мирович Н. И., Тукачинский С. Е., Юрьев В. А. Тез. докл. V междунар. биохим. конгресса. М., изд. АН СССР, 1961.
Иванов И. И. и Блохина В. Д. Биохимия, 1955, 20, 292.
Иванов И. И., Бурнашева С. А., Каныгина К. И., Инютина З. Г. и Рабкина Л. Е. Биохимия, 1945, 10, 205.
Иванов И. И., Гайцхоки В. С., Корхов В. В. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1959, 12, 47.
Иванов И. И., Герасимова А. В., Цимблер М. Л. Вопр. мед. химии, 1953, 6, 45.
Иванов И. И., Жахова З. Н., Зиновьева И. П., Мирович Н. И., Моисеева В. П., Паршина Э. А., Тукачинский С. Е. и Юрьев В. А. Биохимия, 1959, 24, 451.
Иванов И. И. и Иванова Т. И. Докл. АН СССР, 1949, 66, 895.
Иванов И. И. и Иванова Т. И. Докл. АН СССР, 1951, 77, 657.
Иванов И. И., Кадыков В. В., Юрьев В. А. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1959, 7, 46.
Иванов И. И. и Каныгина К. И. Докл. АН СССР, 1945, 50, 361.
Иванов И. И. и Касавина Б. С. Докл. АН СССР, 1948, 60, 417.
Иванов И. И., Касавина Б. С. и Фоменко Л. Д. Nature, 1946, 158, 624, 25, 505.

Иванов И. И., Касавина Б. С. и Фоменко Л. Д. Бюлл. экспер., биол. и мед., 1947а, 23, 56.
Иванов И. И., Касавина Б. С. и Фоменко Л. Д. Биохимия, 1947б, 12, 497.
Иванов И. И. и Киселева Е. Г. Докл. АН СССР, 1948, 60, 81.
Иванов И. И. и Мирович Н. И. Усп. биол. химии, М., Из-во АН СССР, 1958, 3, 182.
Иванов И. И. и Мирович Н. И. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1959, 9, 67.
Иванов И. И. и Мирович Н. И. Вопр. мед. химии, 1960, 4, 403.
Иванов И. И., Паршина Э. А. и Мирович Н. И. Биохимия, 1959, 24, 248.
Иванов И. И. и Пинаев Г. П. Докл. АН СССР, 1957, 115, 763.
Иванов И. И и Торчинский Ю. М. Биохимия, 1955, 20, 328.
Иванов И. И., Юрьев В. А., Кадыков В. В., Крымская Б. М., Моисеева В. П. и Тукачинский С. Е. Биохимия, 1956, 21, 591.
Иванов И. И., Юрьев В. А., Кадыков В. В., Крымская Б. М., Моисеева В. П., Тукачинский С. Е. Докл. АН СССР, 1956, III, 3.
Иванов И. И., Юрьев В. А., Новожилов Д. А., Михайловская Л. А., и Крымская Б. М. Вопр. мед. химии, 1959, 5, 4, 243.
Игнатович А. В. Влияние денервации на содержание глютатиона каталазы и аскорбиновой кислоты в мышечной ткани. Автореф. дисс. Днепропетровск, 1946.
Ильин М. Д. Организованные белки мышечного волокна (миозин и миостромин) и их генетическое отношение. Дисс., СПб., 1900.
Калмакарова М. Б. Структурные изменения белков актомиозинового комплекса в процессе необратимой инактивации. Автореф. дисс. М., 1958.
Канашенок П. С. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1954, 38, 45.
Карпухина Ю. Л. Укр. биохим. журн., 1955, 27, 178.
Касавина Б. С. Вопр. мед. химии, 1949, 1, 298.
Касавина Б. С. Вопр. мед. химии, 1950, 2, 165.
Касавина Б. С. Вопр. мед. химии, 1952, 4, 189.
Касавина Б. С. Тр. II научн. конф. по возрастн. морфол. и физиол., 1955, 194.
Касавина Б. С. и Торчинский Ю. М. Биохимия, 1956, 21, 510.
Касавина Б. С. и Уманская М. В. Биохимия, 1958, 118, 340.
Кафиани К. А. В сб.: Вопросы биохимии мышц. Киев, изд. АН УССР, 1953, 307.
Кашпур А. М. Усп. совр. биол., 1948, 26, 863.
Клименко В. и Кашпур А. М. Физиол. журн. СССР, 1939, 26, 697.
Кирзон М. В. Тр. физиол. научно-исслед. ин-та Лен. ун-та, 1934, 14, 31.
Коган-Ясный В. М. Основы и достижения современной медицины. Харьков, Медгиз, 1938, 4, 170.
Комкова А. И. Система аденозинтрифосфорной кислоты и миозина в скелетных мышцах после выключения их иннервации. Автореф. дисс. Л., 1958.
Кончаловский М. П. Терап. арх., 1937, 15, 5, 458.
Котельникова А. В. Биохимия, 1948, 13, 66.
Котельникова А. В. О некоторых энзиматических превращениях аденозинфосфорных кислот. Автореф. дисс., М., 1952.
Котельникова А. В. Усп. биол. химии, 1958, 3, 206.
Кофман Е. Б. и Маликова А. Н. Биохимия, 1960, 25, 242.
Коштоянц Х. С. Белковые тела, обмен веществ и нервная регуляция. М., Изд. АН СССР, 1951.
Коштоянц Х. С. и Рябиновская А. М. Plüg. Arch., 1935, 235, 416.
Коштоянц Х. С. и Янсон З. А., ДАН СССР, 1950, 75, 881.
Крестовников А. Н. Изв. ин-та им. Лесгафта. Л., 1927, 13, 155.

Кудрявцева А. И. Врач. дело, 1923, 18—20, 472.
Кузин А. М., Плышевская Е. Г. Биофизика, 1956, 1, 141.
Кузнецова Л. Н., Лахно Е. В. и Чаговец Р. В. В сб.: Витамины. Киев, изд. АН УССР, 1953, 174.
Кураев Д. И. О белковом составе мышц покойных и деятельных. Дисс. СПб., 1896.
Куценко Н. А., Нечаева Г. А. Физиол. журн. СССР, 1953, 39, 719.
Кушко В. М. Реакция организма после снятия кровоостанавливающего жгута. Автореферат дисс. М., 1946.
Кушко В. М. Тез. докл. I научн. сессии Ужгородского ун-та, 1947.
Кушко В. М. Тез. докл. VIII Всесоюзн. съезда физиол., биохим. и фармакол., 1955, 361.
Кушко В. М., Балаба Т. Я. В сб.: Научн. раб. каф. биох. 3-го МГМИ. М., 1958, 5.
Лазарев П. П. Современные проблемы естествознания, кн. 7, М.—Пг., 1923.
Лапин И. П. Влияние химических агентов, нарушающих сопряженное фосфорилирование на основные функции сердца лягушки. Автореф. дисс. Л., 1959.
Ланг Г. Ф. Арх. Гос. клин. ин-та усов. врачей, 1922, 1, 16.
Ланг Г. Ф. Гипертоническая болезнь. Медгиз, М., 1954.
Лебединский А. В. и Михельсон Н. И. Тр. Всесоюзн. съезда физиол., 1934, 26.
Лейбсон Р. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1939, 7, 518.
Лепорский А. Н. Химические изменения в мышце после денервации. Л.. Медгиз, 1946.
Любимова М. Н. Вопросы биохимии мышц. Киев, изд. АН УССР, 1954, 277.
Любимова М. Н. Ферментативные свойства миозина поперечно-полосатых мышц. Автореф. дисс. М., 1957.
Любимова М. Н. и Попова Г. Докл. АН СССР, 1949, 66, 438.
Любимова М. Н. и Романцев Е. Ф. Реф. научно-иссл. работ. Отдел. биол. наук АН СССР, 1947.
Любимова М. Н. и Шипалова М. С. Биохимия, 1940, 5, 144.
Макарова А. Ф. Укр. биохим. журн., 1958, 30, 230.
Максимович Н., Фердман Д., Григорьева В. Арх. патол., 1951, 13, 56.
Малахов И. Е. Уч. зап. 2-го Московск. мед. ин-та, 1957, 6, 21.
Мандельбойм М. Б. Невропат., психиатр., психоневр., 1936, 5, 7.
Мардашев С. Р. Усп. биол. химии, 1950, 1, 281.
Мардашев С. Р. и Семина Л. А. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1948, 25, 441.
Медовар Е. Н. Укр. биохим. журн., 1956, 28, 400.
Митев И. Б., Николаев Н. А. Известия Бол. АН. Сер. экспер., биол. и мед., 1958, 4, 87.
Михайловская Л. А., Новожилов Д. А., Иванов И. И. Ортоп., травматол. и протезир., 1958, 3, 28.
Мужеев В. А., Свидерская Т. А. и Шитова З. И. Арх. биол. наук, 1936, 44, 77; 1937, 45, 87.
Мужеев В. А., Шитова З. И. В сб.: Вопросы радиобиологии. 1956, Л., 69.
Мясников А. Л. Гипертоническая болезнь. М., 1954; БМЭ, 1958.
Насонов Д. Н. Местная реакция протоплазмы и распространяющееся возбуждение. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1959.
Насонов Д. Н. и Александров В. Я. Реакция живого вещества на внешнее воздействие. М.—Л., Изд-во АН СССР, 1940.
Некрасов П. А. Тр. 3-го Всесоюзн. съезда физиол., 1928, 75.
Нейфах С. А. Некоторые философские вопросы теоретической медицины. Л, ИЭМ., 1958.
Нечаев А. А. Zs. f. exp. Med., 1923, 35, H. 4—6.
Нечипоренко З. Ю. Укр. биохим. журн., 1955, 27, 146.

Нечипоренко З. Ю. Укр. биохим. журн., 1956, 28, 4, 433.
Новикова А. А. Тез. докл. XVII итог. научн. конф. Днепропетровск. мед. ин-та, 1955, 224.
Овчаренко В. Физиол. журн.. СССР, 1939, 26, 702
Окунев В. Н. Автореф. дисс. Днепропетровск, 1954; Экспер. хир. 1956, 6, 47.
Оппель В. В. Биохимия, 1940, 5, 535.
Оппель В. В. Усп. совр. биол., 1958, 46, 281.
Оппель В. В. Укр. биохим. журн., 1959, 31, 144.
Оппель В. В. и Серебреникова Т. П. Докл. АН СССР, 1958, 122, 271.
Оппель В. В. и Хлюстина Т. Б. Биохимия, 1960, 25, 532.
Орбели Л. А. Тр. 2-го съезда физиол., 1926.
Орбели Л. А. Лекции по физиологии нервной системы. Л., Медгиз, 1938.
Орехович В. Н. Усп. химии, 1947, 16, 690.
Палладин А. В. Усп. совр. биол., 1945, 19, 316.
Палладин А. В. Физиол. журн. СССР, 1935, 19, 277.
Палладин А. В. Успехи совр. биол., 1937, 7,3; 1945, 13, 316.
Палладин А. В., Палладина Л. и Персова Е. Zs. Physiol. Chemie, 1931, 236, 268.
Палладин А. В. и Сигалова Р. Р. Укр. биохим. журн., 1934, 7, 41.
Палладин А. В. и Фердман Д. Л. Zs. Physiol. Chemie, 1928, 174, 284.
Палладин А. В. и Эпельбаум С. Ф. Научн. зап. Укр. биохим. ин-та, 1928, 3, 71.
Паршин А. Н. Усп. химии, 1941, 10, 688.
Паршин А. Н. Тез. докл. Лен. о-ва физиол., биохим. и фармакол., Л., 1957.
Паршин А. Н. и Горюхина Т. А. Докл. АН СССР, 1950, 73, 531; 1951, 77, 665.
Перельман Л. Б., Матлина Э. Ш. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1957, 44, 65.
Поглазов Б. Ф. Докл. АН СССР, 1947, 109, 597.
Поглазов Б. Ф. Усп. совр. биол., 1960, 49, 183.
Поглазов Б. Ф. Изучение аденозинтрифосфатазы мышц и некоторых растений. Автореф. дисс. М., 1957.
Поглазов Б. Ф., Билуши В. и Баев А. А. Биохимия, 23, 269, 1958.
Полиомиелит. Сб. статей, пер. с англ., под ред. М. К. Ворошиловой. М., 1957.
Присман И. М. см. Чумаков М. Л. и др., 1953.
Роскин Г. И. Цит. по А. А. Заварзину и С. И. Щелкунову, 1957.
Рябиновская А. М. Докл. АН СССР, 1940, 27, 97.
Свенссон Г. В сб.: Химия белка. М.—Л., 1949.
Северин С. Е. Биохимия, 1957, 22, 259.
Северин С. Е. и Мешкова Н. П. Докл. АН СССР, 1951, 79, 549; 1952, 84, 105; 1953, 92, 4.
Северин С. Е. и Юдаев Н. А. Биохимия, 1951, 16, 286.
Сент-Дьердьи А. Биоэнергетика. М., Физматгиз, 1960.
Сент-Джиордьи. О мышечной деятельности. М., Медгиз, 1947.
Силакова А. И. Укр. биохим. журн., 1953, 25, 77.
Силакова А. И. Укр. биохим. журн., 1957, 29, 221.
Сисакян Н. М. Биохимия обмена веществ. М., 1954.
Сложеникина Л. В. Вопр. мед. химии, 1957, 3, 137
Степаненко Б. Н. и Боброва Л. Н. Докл. АН СССР, 1958, 119, 547.
Степанов Г. И. Изв. Ин-та им. Лесгафта, 1923, 6, 198.
Стефановская З. Ф. Тез. докл. XVII итог. научн. конф. Днепропетровск. мед. ин-та, 1955, 242.
Стрелина А. В. Биохимия, 1954, 19, 391.
Стрелина А. В. Физиол. журн., 1956, 17, 410.
Стрелина А. В., Иванов И. И. и Жуков Е. Г. Физиол. журн. СССР, 1957, 18, 357.
Стрельцов В. В. Физиол. журн. СССР, 1924, VII, 193; 1926, XI, 427.

Студитский А. Н. Экспериментальная хирургия мышц. М., изд-во АН СССР, 1959.
Телепнева В. И. Особенности углеводно-фосфорного обмена в мышцах кролика после денервации и тендотомии. Автореф. дисс. М., 1953. Биохимия, 1955, 20, 212. Вопр. мед. химии, 1957, 3, 456.
Толкачевская Н. Ф. Развитие процессов обмена у детей первого года жизни. М., издат. АМН СССР, 1951.
Тономура Ю., Мацумия Х., Китагава С. и Морита У. Усп. совр. биол., 1957, 44, 362.
Торбочкина Л. И. Связь между ферментативными и механическими свойствами белков мышц. Автореф. дисс. М., 1953.
Торчинский Ю. М. О природе сокращения актомиозина под влиянием АТФ в некоторых модельных системах. Автореф. дисс. Л., 1957.
Торчинский Ю. М. Усп. совр. биол., 1958, 46, 1, 19.
Торчинский Ю. М. Вопр. мед. химии, 1958, 4, 285.
Троицкий Г. В. Усп. биол. хим., 1954, 2, 141.
Уфлянд Ю. М. Физиол. журн. СССР, 1952, 38, 247; Уч. зап. ЛГУ, посвящ. А. А. Ухтомскому, 1954, 208.
Уфлянд Ю. М. В кн.: Проблемы функциональной морфологии двигательного аппарата. Л., Медгиз, 1956, 178.
Файншмидт О. И. Биохимия, 1939, 4, 127, 411.
Файншмидт О. И. Укр. биохим. журн., 1941, 17, 127.
Файншмидт О. И. и Фердман Д. Л. Научн. зап. Укр. биох. ин-та, 1928, 3, 83.
Федоров И. И. В сб.: Механизмы патологических реакций. Под ред. В. С. Галкина. Л., Медгиз, 1945.
Фердман Д. Л. Укр. биохим. журн., 1947, 19, 357.
Фердман Д. Л. Биохим. заболев. мышц. Киев, 1953.
Фердман Д. Л. В сб.: Вопросы биохимии мышц. Киев, изд. АН Укр. ССР, 1954, 113.
Фердман Д. Л. Вопр. мед. хим., 1957, 3, 351.
Фердман Д. Л. В сб.: Витамины. Киев, изд. АН УССР, 1953, 225.
Фердман Д. Л. В кн.: Материалы международной конференции по мирному использованию атомной энергии. М., 1955, т. 10, 579.
Фердман Д. Л. В сб.: Витамины, Киев, изд. АН УССР, 1958, 1, 142.
Фердман Д. Л. и Григорьева В. А. Укр. биох. журн., 1950, 22, 41.
Фердман Д. Л. и Григорьева В. А. Докл. АН СССР, 1952, XXXV, 863.
Фердман Д. Л., Григорьева В. А., Нечипоренко З. Ю., Силакова А. И., Эпштейн С. Ф. Тез. докл. III Всесоюзн. съезда физиол., биохим., фармак. М., 1955, 635.
Фердман Д. Л., Местечкина А. Я. Укр. биохим. журн., 1951, XXIII, 103.
Фердман Д. Л. и Нечипоренко З. Ю. Укр. биохим. журн., 1946, 19, 108.
Фердман Д. Л., Сопин Е. Ф. Научн. зап. Киевск. ун-та, 1957, 16, 20, 71.
Фердман Д. Л. и Файншмидт О. И. Zs. Physiol. Chemie, 1929, 183, 261.
Фердман Д. Л. и Файншмидт О. И. Bioch. Zs., 1935, 277, 203.
Фетисова Т. В. В кн.: Вопросы биохимии мышц. Киев, изд. АН Укр. СССР, 1954, 97; Врач. дело, 1957, 2, 143.
Фоменко Л. Д. Роль полифосфорных соединений в обмене веществ сперматозоида. Дисс. М., 1947.
Франк Г. М. Проблемы современной физиологии нервной и мышечной систем. В сб., посвящ. 70-летию акад. И. С. Беритавшвили. Тбилиси, 1956, 475.
Франк Г. М. Расширенные рефераты докладов на симпозиумах IX съезда Всесоюзн. об-ва физиол., биохим. и фармакологов, 1959, 3.
Фридлянд И. Б. Вопр. мед. химии, 1956, 1, 19.
Фридман С. Я. Тр. ЛСГМИ, 1950, 7, 148; Автореф. дисс., Л., 1953.

Хлопина И. Д. Морфологические изменения денервированных тканей и развитие трофической язвы нейрогенного происхождения. Л., Медгиз, 1957.
Худорожева А. Т. Физиол. журн. СССР, 1957, 23, 637.
Худорожева А. Т. Физиол. журн. СССР, 1932, X, 287.
Худорожева А. Т. III Всесоюзн. съезд физиол., биохим. и фармакол., 1955.
Цынкаловская С. Н. Укр. биохим. журн., 1957, 29, 458; 1958, 30, 27.
Чаговец Р. В. Укр. биохим. журн., 1957, 29, 450.
Чаговец Р. В. Вопросы биохимии мышц. Киев, изд. АН УССР, 1954, 14.
Ченыкаева Е. Ю. Изв. АН СССР, сер. биол., 1943, 1, 35.
Чепинога О. П. Укр. биохим. журн., 1938, 10, 823.
Чумаков М. П., Присман И. М., Зацепин Г. С. Полиомиелит, детский спинно-мозговой паралич. М., Медгиз, 1953.
Шабанова И. А. Биохимия, 1953, 18, 385; 19, 385.
Шапот В. С. Усп. совр. биол., 1954, 37, 255.
Шатенштейн Д. И. и Цырлина Д. Л. Арх. биол. наук, 1935, 40, 2.
Шевес Г. С. Биохимия, 1953, 18, 63; 1955; 20, 152.
Шевес Г. С. Биохомия, 1955, 20, 2, 152.
Шевес Г. С. Тр. Пермск. мед. ин-та, 1957, 26, 175.
Шевес Г. С. и Рюмина В. И. Биохимия, 1956, 21, 385.
Шевес Г. С., Эпельбаум, Рюмина В. И. Биохимия, 1956, 21, 71.
Шерстнев Е. А. Докл. АН СССР, 119, 753.
Шерстнев Е. А. Тр. ин-та онкол. АМН СССР, 1958, 2, 92.
Шитова З. И. В сб.: Вопросы радиобиологии. Л., 1956, 51 и 59.
Шмагина А. П. Мерцательное движение. М., Медгиз, 1948.
Шноль С. Э. Вопр. мед. химии, 1958, 6, 443.
Энгельгард В. А. Bioch. Zs., 1932, 251, 343.
Энгельгардт В. А. Казанск. мед. журн., 1930, 5—6, 535.
Энгельгардт В. А. Усп. совр. биол., 1941, 14, 177.
Энгельгардт В. А. и Бурнашева С. А. Биохимия, 1957, 22, в. 3, 554.
Энгельгардт В. А. и Любимова М. Н. Nature, 1939, 144, 663.
Энгельгардт В. А. и Любимова М. Н. Биохимия, 1942, 7, 205.
Энгельгардт В. А., Любимова М. Н., Венкстерн Т. В., Тимофеева М. Я., Бабская Ю. Б. Докл. АН СССР, 1952, 85, 397.
Энгельгардт В. А., Любимова М. Н. и Мейтина Р. А. Докл. АН СССР, 1941, 30, 639.
Энгельгардт В. А., Яровая Г. А. Укр. биохим. журн., 1955, 27, 312.
Эпельбаум С. Е. и Кантор Л. Ф. Биохимия, 1954, 19, 660.
Эпидемический полиомиелит. Под ред. Н. В. Коновалова. М., Медгиз, 1957.
Юдаев Н. А., Крехова М. А. Вопр. мед. химии, 1955, 1, 24.
Юдаев Н. А., Смирнов М. И., Разина П. Г., Добберт Н. Н. Биохимия, 1953, 18, 732.
Юделович Р. Я. В сб.: О механизме нервных и гуморальных связей. Под ред. И. П. Разенкова. М., Медгиз, 1940, 81.
Юрьев В. А. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1961, 6.
Яковлев Н. Н. Сб. тр. Лен. научн.-иссл. ин-та физ. культ. Л., 1943, 4, 39; 1949, 4, 61.
Яковлев Н. Н. Усп. биол. химии, 1958, 3, 388.
Яковлев Н. Н. Усп. совр. биол., 1949, 27, 257.
Яковлев Н. Н. Очерки по биохимии спорта. Изд. «Физкульт. и спорт», Л., 1956, 19, 520.
Яковлев Н. Н. Вопр. мед. химии, 1957, 3, 163.
Яковлев Н. Н. Журн. общ. биол., 1958, 19, 417.
Яковлев Н. Н., Лешкович Л. Г., Макарова А. Ф. и Попова Н. К. Укр. биохим. журн., 1959, 31, 75.

Яковлев Н. Н. и Ямпольская Л. И. Бюлл. экспер. биол. и мед., 1947, 24, 287.

Adachi R. Vitamins, 1953, 6, 345.
Aloisi M., Ascenzi A., Bonetti E. Biochim. Biophys. Acta, 1953, 10, 70.
Amberson W., White I., Bensusan H., Himmelfarb S., Blacenhorn B. Am. J. Physiol., 1956, 188, 205.
Andres K., Cader F., Zierler K. Am. J. Physiol. Med., 1955, 34, 286; J. Clin. Invest., 1956, 35, 671.
Aronson S., Volk B. Am. J. Med., 1957, 22, 414; Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 1957, 94, 360.
Astbury W. Proc. Roy. Soc. Biol., 1947, 134, 303.
Azzone G., Aloisi M. Biochim. Biophys. Acta, 1955, 18, 451.
Bacigalupo F., Luecke R. J. Animal Sci., 1954, 13, 245.
Baechtel W. R., Allen I. K., Dobson H. L. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 1958, 96, 3.
Bailey K. Biochem. J., 1937, 31, 1406.
Bailey K. Advances in protein chemistry, 1944, 4, 289.
Bailey K. Nature, 1946, 157, 368.
Bailey K. Biochem. J., 1948, 43, 271.
Bailey K. Publ. staz. zool. Napoli, 1956, 29, 96.
Bailey K. Biochem. J., 1956, 64, 9P.
Bailey K. Biochim. Biophys. Acta, 1957, 24, 612.
Bailey K., Gutfreund H. a. Ogston A. Biochem. J., 1948, 43, 279.
Bailey K., Perry S. Biochim. Biophys. Acta, 1947, 1, 506.
Banerjee S., Biswas D., Singh H. J. Biol. Chem., 1958, 230, 261.
Banga I. Stud. f. Inst. méd. Chem., Szeged 1943, III, 64.
Baranowski T. Ztschr. physiol. Chem., 260, 43; Compt. Rend. Soc. Biol., 1939, 130, 1182.
Baranowski T. J. Biol. Chem., 1949, 180, 535.
Bárány M. a. Bárány K. Biochim. Biophys. Acta, 1959, 35, 293.
Barbieri E. Atti Ist. veneto sci., littero ed arti. Cl. Sci. Eat. e. natur., 1955, 113, 115.
Barron E. S. C. Adv. Enzym., 1951, 6, 147.
Bass A., Gutmann E., Vodicka Z. Physiologia Bohemoslovenica, 1955, 4, 217.
Bate-Smith E. Proc. Roy. Soc. Biol., London, 1937, 124, 136.
Bear R. J. Am. Chem. Soc., 1944, 66, 2043; 1945, 67, 1625.
Beckett E. B., Bourne G. H. Science, 1957, 126, 357; J. Neuropathol. a. Expl. Neurol., 1958, 2, 199.
Beckmann R., Buddecke E. Klin. Wschr., 1956, 34, 818.
Bendall J. Nature, 1952, 170, 1058.
Bendall J. J. Physiol., 1953, 121, 232.
Bendall J. Proc. Roy. Soc. Biol., 1953, 139, 523.
Bendall J. Proc. Roy. Soc. Biol., 1954, 142, 409.
Benedict J., Kalinsky H., Scarrone L., Wertheim A., Stetten J. J. Clin. Invest., 1955, 34, 141.
Boehm G. u. Weber H. Koll. Z., 1932, 61, 269.
Berg P. a. Joklik W. Nature, 1953, 172, 1008.
Bergkvist R. u. Deutsch A. Acta Chem. Scand., 1954, 8, 1889.
Bergner A. Brit. J. Exp. Pathol., 1957, 38, 160.
Berzelius J. Цит. по Lehrbuch d. Chem., 4 Verl. Aufl., Dresden u. Leipzig, 1840.
Bethe A. Pflug. Arch. ges. Physiol., 1911, 142, 291.
Blahd W., Bloom A., Drell W. Proc. Soc. Exptl. Biol. a. Med., 1955, 90, 704.
Blum I., Morales M. Arch. Biochem. Biophys., 1953, 37, 27; 43, 208.
Blum I. Arch. Biochim. Biophys., 1955, 55, 486.
Boecke J. Int. Wschr. Anat. Physiol., 1911, 28, 377; Verh. Anat. Ges, München, 1922, April; Anat. Anz., 1913, 44.

Boehm G. u. Weber H. Z. Biol., 1931. 91, 203.
Boehm G. u. Weber H. Koll. Z., 1932, 61, 269.
Boer S. Folia neuro-biol., 1913, 7, 837; Z. Biol., 1915, 65, 239.
Bourguignon A. Compt. Rend. Soc. Biol., 1955; 149, 1946; 1957, 151, 1334.
Bowen W. Am. J. Physiol., 1951, 165, 10.
Bowen W., Gershfeld M. Biochim. Biophys. Acta, 1957, 24, 315.
Bowen W., Kerwin T. J. Biol. Chem., 1954, 211, 1, 237.
Bowen W., Kerwin T. Biochim. Biophys Acta, 1955, 18, 83.
Bowen W., Martin H. Am. J. Physiol., 1958, 195, 311.
Bozler E. Am. J. Physiol., 1951, 167, 276.
Bozler E. J. Gen. Physiol., 1956, 5, 789.
Brown A., Ardsimavicius A., Abbott R., Hass G. Feder. Proc., 1955, 14, 400.
Buchthal F., Deutsch A., Knappeis G. Acta Physiol. Scand., 1944, 13, 167.
Buchthal F., Swensmark O. a. Rosenfalk P. Physiol. Rev., 1956, 36, 503; Bull. Johns Hôpk. Hosp., 1958, 102, 17.
Buscanio G., Corsi A. Acta Neurol., 1959, 14, 397.
Cannon W., Newton H. Am. J. Physiol.. 1929, 89, 84.
Carlson F. Proceedings of the First National Biophysics Conference, 1959, 128.
Carlson F., Siger A. Biol. Bull., 1957, 113, 324.
Carlson F., Siger A. Abstr. Biophys. Soc., 1958, Febr., p. 46.
Carlson F., Siger A. The mechanochemistry of muscular contraction, 1959.
Carlson F., Siger A. J. Gen. Physiol., 1959, 43, 301.
Chance B., Williams G. J. Biol. Chem., 1955, 217, 409.
Chance B., Connely C. Nature, 1957, 179, 1236.
Chance B., Baltscheftsky H. J. Biol. Chem., 1958, 233, 736.
Chance B., Jöbsis. Nature, 1959, 184, 195.
Chemol J., Bourillet F., Kerp L. Compt. Rend. Acad. Sci., 1955, 241, 530.
Chitre R., Agashe S. Indian J. Med. Res., 1956, 44, 609.
Clark A., Gaddie R., Stewart C. J. Physiol., 1931, 72, 443.
Clark A., Gaddie R., Stewart C. J. Physiol., 1932, 75, 316.
Cobb S. Physiol. Rev., 1925, 5, 518.
Coltorti M., Della-Pietra G. Boll. Soc. Ital. Biol. Sperim., 1953, 29, 1833.
Coltorti M., Villari V. Giorn. malatt. infett. e. parass., 1953, 6, 129; 1954, 32, 345; 1953, 32, 351.
Corsi A. Sperimentale, 1957, 107, 328.
Corsi A., Gallucci V. a. Bargellini P. Brit. J. Exp. Pathol., 1959, 15, 375.
Crepax P. Atti academ. nazion. del Lincel, 1951, 15, 169.
Crepax P. Biochim. Biophys. Acta, 1952, 9, 385.
Crepax P. Arch. Sci. Biol., 1949, 33, 362; 1953, 37, 419.
Csapo A. Am. J. Physiol., 1950, 160, 46.
Csapo A., Herrmann H. Am. J. Physiol., 1951, 165, 701.
Curley F., Aycock W. Endocrinology, 1947, 39, 414.
Dainty M., Kleinzeller A., Lawrence A., Miall M., Needham J., Needham D. J. Gen. Physiol., 1944, 27, 355.
Desmedt J. J. Physiol., Paris, 1955, 47, 655.
Deuticke H. Z. physiol. Chem.. 1934, 224, 216.
Di-Maggio C., Mercadante T. Patol. sperim., 1956, 44, 289.
Dinning G. S., Fitch C. D. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 1958, 97, 109.
Disteche A. Nature, 1948, 161, 130; Biochim. Biophys. Acta, 1948, 2, 265.
Doty D. M., Wachter J. P. J. Agric. a. Food Chem., 1955, 3, 61.
Dreyfus J., Schapira G., Schapira F. J. Clin. Invest., 1954, XXXIII, 794.
Dreyfus J., Schapira G. Compt. Rend. Soc. Biol., 1955, 149, 1934; 1953, 147, 1145.

Dubuisson M. Biol. Rev., 1950, 25, 46.
Dubuisson M. Muscular Contraction. Springfield Illinois, 1954.
Eckel R., Pope Ch., Norris J. Arch. Biochem. Biophys., 1954, 52, 293.
Edsall J. J. Biol. Chem., 1930, 89, 289.
Eggleton P. a. Eggleton G. Biol. J., 1927, 21, 190.
Ellis J. T. Am. J. Physiol. Med., 1955, 34, 240.
Embden G. Handb. norm. u. pathol Physiol., 1925, 8, 369.
Embden G. Z. physiol. Chem., 1928, 178, 311.
Embden G. u. Hentschel H. Z. physiol. Chem., 1927, 165, 255.
Embden G., Hirsch-Kaufmann H., Lehnartz E., Deuticke H. Z. physiol. Chem., 1926, 151, 209.
Engelhardt V. A. Adv. Enzymol., 1946, 6, 147.
Engelman T. Jena Z., 1868, 4, 321.
Engelman T. Arch. Ges., 1873, 11, 465.
Engelman T. Pflüg. Arch., 1881, 25, 538.
Erbslöh F. Dtsch. Z. Nervenheilkunde, 1955, 173, 503.
Evans C. J. Physiol., 1914, 47, 407.
Evans J. H., Baker K. W. R. Brain, 1957, 80, 557.
Ferrari F. Acta Vitaminol., 1957, II, 97, 101.
Feuer G. Acta Physiol. Acad. Sci. Hung., 1957, II, 1.
Fisher E. Arch. Phys. Med., 1948, 5, 291; Arch. Phys. Med., 1949, 30, 375; Am. J. Phys. Med., 1955, 34, 212.
Fisher E., Huf E., Ramsey V., Ryland C., Feder. Proc., 1947, 6, 103.
Fisher E., Ramsey V. Arch. Phys. Med., 1944, 25, 709; Am. J. Physiol., 1946, 145, 571.
Fiske H., Subbarow J. Science, 1927, 65, 401.
Fiske H., Subbarow J. Science, 1929, 70, 381.
Fiske H., Subbarow J. J. Biol. Chem., 1929, 81, 629.
Fleckenstein A., Janke J., Davies K., Krebs H. Nature, 1954, 174, 1081.
Fleckenstein A., Janke J., Lechner G., Bauer G. Pflüg. Arch. ges. Physiol., 1954, 259, 246.
Fletcher W., Hopkins F. J. Physiol., 1907, 35, 247.
Fletcher W., Hopkins F. Proc. Roy. Soc., 1917, 89, 444.
Flückiger E., Verzar F. Experientia, 1954, 10, 259; Acta endocrinol., 1954, 17, 480; Helv. Physiol. et Pharmacol. Acta, 1954, 12, 57.
Flückiger E. Helv. Physiol. et Pharmacol. Acta, 1955, 13, 611.
Foley G., Aycock W. Endocrinology, 1945, 37, 245.
Friess S., Morales M., Bowen W. Arch. Biochem. Biophys., 1954, 53, 311.
Fröhlich A., Meyer Zbl. f. Physiol., 1912, 26, 269.
Fürth O. Arch. Exp. Path. Pharm., 1895, 36, 231.
Gelfan S. Ann. Rev. Physiol., 1958, 20, 67.
Gerendas M. Stud. Inst. Med. Chem. Univ., Szeged, I, 1942, 47.
Gergely G. Federat. Proc., 1950, 9, 176.
Gergely G. Abstr. Biophys. Soc., 1958, Febr., 46.
Gilbert J., Hines H. Am. J. Physiol., 1950, 163, 575.
Ginter E. Csl. gastroenterol. a vyziva., 1957, II, 329.
Gitlin D., Nakasato D., Richardson W. J. Clin. Invest., 1955, 34, 135.
Glaister D., Kerly M. J. Physiol., 1936, 87, 56.
Goodall M. Nature, 1956, 177, 1238.
Goodall W., Hackel D. Circul. Res., 1953, I, 509.
Goodall M., Szent-Gyorgyi A. Nature, 1953, 172, 84.
Gorini G. Boll. Inst. sieroterap. milanese, 1954, 33, 488.
Green M. J. Exptl. Zool., 1956, 133, 481.
Green D. Lab. Invest., 1959, 8, 443.
Green D. Symposia Soc. Exp. Biol., 1957, 10, 30.
Green D. Subcellular Particles. Am. Physiol. Soc., 1959, 84.
Greenstein I., Edsall J. J. Biol. Chem., 1940, 133, 397.

Grishchenko E. D. J. Res. Instit. for Catalysis, Hokkaido University, 1958, 6, 97.
Hall C., Jakus M., Schmitt F. J. Appl. Phys., 1945, 16, 459.
Hall C. E., Jakus M. A., Schmitt F. O. Biol. Bull., 1946, 90, 32.
Halliburton B. J. Physiol., 1887, 8, 133.
Hamoir G. Biochem. J., 1951, 48, 146.
Hamoir G. Bioch. J., 1952, 50, 140.
Hanson J., Lowy J., Huxley H., Bailey K., Kay C., Rüegg J. Nature, 1957, 180, 1134.
Hanson J., Huxley H. Nature, 1953, 172, 530.
Hanson J., Huxley H. Symp. Soc. Exp. Biol., 1955, 9, 228.
Hanson J., Huxley H. Biochim. Biophys. Acta, 1957, 23, 250.
Harris E., Nicholls. J. Physiol., 1956, 131, 473.
Harvath B., Berg J., Cummings D. J., Shy G. J. Appl. Physiol., 1955, 8, 22.
Hasselbach W. Ztschr. Naturforsch. 1952, 75, 163.
Hasselbach W. Z. Naturforsch., 1953, 8b, 449.
Hasselbach W. Biochim. Biophys. Acta, 1956, 20, 355.
Hasselbach W. Biochim. Biophys. Acta, 1957, 25, 365.
Hasselbach W. u. Schneider. Bioch. Ztschr., 1951, 321, 461.
Hasselbach W., Weber H. Biochim. Biophys. Acta, 1953, II, 160.
Hasselbach W., Weber H. Pharm. Rev., 1955, 7, 97.
Hayashi T. J. Gen. Physiol., 1952, 36, 139.
Hayashi T., Rosenbluth R., Satir P., Vozick M. Biochim. Biophys. Acta, 1958, 28, I.
Hefter J., Embden G., Lehnarz M. Z. physiol. Chemie, 1930, 167.
Hefter J., Judelowitsch R. Biochem. Z. 1928, 193, 62.
Helander E. Acta Physiol. Scand., 1957, suppl. 141.
Henriques V., Lundsgaard E. Biochem. Z., 1931, 236, 219.
Hermann H. Цит. по книге Lieben F. Geschichte der Physiol. Chemie, Leipzig, 1935.
Herrmann H., Lehrmann, White. Biochim. Biophys. Acta, 1958, 27, 161.
Herrmann H., Nicholas I. J. Exptl. Zool., 1948, 107, 165.
Hetenyi E. Kiserl. orvostud., 1956, 8, 230.
Hill A. V. Proc. Roy. Soc. Lond., 1938, 126, 136.
Hill A. V. Proc. Roy. Soc. Ser. B., 1949, 136, 420; 1950, 166, 646.
Hill A., Hartree W. J. Physiol., 1920, 54, 84.
Hill A., Hartree W. J. Physiol., 1921, 55, 133.
Hill A., Hartree W. J. Physiol., 1922, 56, 367.
Hines H. Am. Med. Ass., 1942, 120, 515.
Hines H., Leese C., Knowlton G. Am. J. Physiol., 1931, 98, 50.
Hines H., Knowlton G., J. Physiol., 1933, 104, 379; 1933, 105, 51; 1935, 111, 243; 1937, 120, 719; 1939, 128, 97.
Hines H., Wachholder W. J. Iowa State a. Med. Soc., 1944, 34, 142.
Hippel P., Schachman H., Appel P., Morales M. Biochim. Biophys. Acta, 1958, 28, 504.
Hirohasi S. Japan J. Med. Sci., Trans. III; Biophysics, 1940, 7, 79.
Hoch F. L., Lipmann F. Proc. Nat. Acad. Sci., 1954, 40, 909.
Hodge A. J. Biophys. a. Biochem. Cytology, 1955, I, 361; 1956, 2, 131.
Hodge A. J. Rev. of Modern Physics, 1959, 31, 409.
Hodgkin A. Biol. Rev., 1951, 26, 339; Proc. Roy. Soc., 1958, 148, 1.
Hoffmann-Berling H. Biochim. Biophys. Acta, 1954, 14, 182.
Hoffmann-Berling H. Biochim. Biophys. Acta, 1954, 15, 226.
Hoffmann-Berling H. Biochim. Biophys. Acta, 1954, 15, 332.
Hoffmann-Berling H. Biochim. Biophys. Acta, 1955, 16, 146.
Hoffmann-Berling H. Biochim. Biophys. Acta, 1956, 19, 453.
Hoffmann-Berling H. Biochim. Biophys. Acta, 1958, 27, 247.
Hoffmann-Berling H., Weber H. Biochim. Biophys. Acta, 1953, 10, 629.
Hoffmann R., Magnus-Alsleben E. Z. Biol., 1922, 77, 105.

Hoffmann A., Werttheimer E. Pflüg. Arch., 1927, 217, 138.
Holtman D. Science, 1946, 104, 50.
Holtzer A., Lowey S. J. Am. Chem. Soc., 1959, 81, 1370.
Houchini O. J. Biol. Chem., 1942, 146, 313.
Houchini O., Mattill H. J. Biol. Chem., 1942, 146, 309.
Huf E., Fischer E. Am. J. Physiol., 1949, 159, 6.
Hummel J. J. Biol. Chem., 1948, 172, 421.
Humoller F. L., Griswold B. a. McIntyre A. R. J. Gen. Physiol., 1950, 33, 723.
Humoller F. L., Griswold B. a. McIntyre A. R. Am. J. Physiol., 1950, 161, 406.
Hunter J. Lectures on the sympathetic innervation of striated muscle, London, 1925.
Huxley H. Biochim. Biophys. Acta, 1953, 12, 387.
Huxley H. Prog. Biophys. a. Biophys. Chem., 1957, 7, 255; J. Biophys. a. Biochem. Cytology, 1957, 3, 631.
Huxley H., Hanson J. Nature, 1954, 173, 973.
Huxley H., Hanson J. Biochim. Biophys. Acta, 1957, 23, 229.
Huxley A., Niedergerke R. Nature, 1954, 173, 971.
Hyrley K., Williams R. Arch. Biochem. Biophys., 1955, 54, 384.
Indovina J., Pattavina C. Boll. Soc. Ital Biol. Sperim., 1953, 29, 762.
Ivanov I. I., Mirovich N. I., Moisseiva V. P., Parshina E. A., Tukachinsky S. E., Yuriev V. A., Zhakhova Z. N., Zinovieva I. P. Acta Physiol. Hung., 1959, 16, 7.
Issekutz B. J., Hetenyi G. Winter M. Acta physiol. Acad. Sci., Hung., 1955, 7, 361.
Jacob J. Biochim. J., 1947, 41, 83.
Jacob J. Biochim. J., 1948, 42, 71.
Jacob W., Neuhaus. J. Klin. Wschr., 1954, 32, 923.
Jordan W., Oster G. Science, 1948, 108, 188.
Joly M., Schapira G., Dreyfus J. Arch. Biochem. Biophys., 1955,
Johnson W., Kahn J., Szent-Gyorgyi A., Science, 1959, 130, 68, 160.
Jordan W., Gray I. J. Biol. Chem., 1955, 215, 669.
Kalckar H. Enzymologia, 1939, 6, 209.
Katchalsky A. J. Polimer Sci., 1951, 7, 393.
Katchalsky A. Progr. Biophys. a. Biophys. Chem., 1954, 4, I.
Kawakami M. Japan. J. Physiol., 1955, 5, 251.
Kay C., Bailey K. Biochim. Biophys. Acta., 1959, 31, 20.
Kay C. Biochim. Biophys. Acta, 1959, 27, 469.
Keppola. Acta Med. Scand., 1924, 7.
Kertai P., Gati T., Feher I., Harmos Gy., Kocsis F. Acta Physiol. Acad. Sci. Hung., 1956, 9, 285.
Kielley W., Harrington W. Biochim. Biophys. Acta, 1960.
Kitaoka M., Miura T., Hori K., Japan J. Med. Sci. a. Biol., 1953, 6, 475.
Kochakian Ch. D., Tillotson C., Austin J., Dougherty E., Haag V., Coalson R. Endocrinology, 1956, 58, 315.
Kochland. J. Biol. Chem., 1954, 211, 279.
Kojima M. Vitamins, 1955, 9, 503, (японск.).
Kominz D., Hough A., Symonds P., Laki K. Arch. Biochim. Biophys., 1954, 50, 148.
Kominz D., Saad F., Glander J., Laki K. Arch. Biochem. Biophys., 1957, 70, 16.
Kominz D., Saad F., Laki K. Nature, 1957, 179, 206.
Kovacs E. J. Exp. Med., 1956, 104, 589.
Kraupp O. Arch. Exptl. Pathol. u. Pharmacol., 1956, 228, 271.
Kraupp O., Starmann H., Pillat B., Clodi P. Arch. Exptl. Pathol. u. Pharmacol., 1956, 229, 419.
Kraupp O., Werner G., Kollinger W., Starmann H. Arch. Exptl. Pathol. u. Pharmacol., 1955, 226, 301. 59, 165.

Krogh A. a. Lindhard J. Bioch. J., 1920, 14, 290.
Kylin. Der Blutdruck des Menschen. Dresden, 1937.
Kuhn W., Kunzle O., Katchalsky A. Helv. Chim. Acta, 1948, 31, 1994.
Kühne W. Untersuchungen uber das Protoplasma und Contractilitat. Diss., Leipzig, 1864.
Kumagai H., Eboshi S. a. Takeda F. Nature, 1955, 176, 166.
Kuschinsky G., Lange G., Tubra F. Biochem. Z., 1954, 325, 321.
Kuschinsky G., Turba F. Biochim. Biophys. Acta, 1951, 6, 426.
Lahiri S., Banerjee S. Proc. Soc. Exptl. Biol. a. Med., 1956, 93, 557.
Laki K. J. Confer. Chem. of Musc. Contract., Japan, 1957a.
Laki K. J. Cell. a. Comp. Physiol., 1957б, 49, 249.
Laki K. J. Biol. Chem., 1958, 234, 3, 551.
Laki K., Carroll W. Nature, 1955, 175, 389.
Laki K., Spicer S., Carroll W. Nature, 1952, 169, 328.
Lamedica G., Lotti G., Ghiglotti G. Boll. Soc. Ital Biol. Sperim., 1957, 33, 1075.
Lammers W., Most van Spijk D. Nature, 1954, 173, 1192.
Lange G. Biochem. Z., 1955, 26, 172.
Langley I., Itagaki M. J. Physiol., 1917, 51, 202.
Lardy H., Hansen R., Phillips P. Arch. Biochem. 1945, 6, 41.
Lardy H., Feldott G. Ann. N. J. Acad. Sci., 1951, 54, 636.
Lardy H., Phillips P. Am. J. Physiol., 1942, 133, 602.
Lardy H., Winchester B., Phillips P. Arch. Biol., 1955, 6, 33; 1955, 6, 41.
Laufer H. J. Embryol. Exp. Morph., 1959, 7, 431.
Lazere B., Thomson J., Hines H. Am. J. Physiol., 1943, 138, 357.
Leipert Th., Wanko Th. Acta neuroveget., 1956, 13, 93.
Leonard S. L. Proc. Soc. Exptl. Biol. a. Med., 1957, 94, 458; 1957, 60, 619.
Leroy D., Robin J. Semaine hôpitaux. Paris, 1955, 31, 93, J. Med. et Chir. Prat., 1955, 126, 627.
Levine R., Hechter O., Soskin S. Am. J. Physiol., 1941, 2, 132.
Lewis M., Saroff H. J. Am. Chem., Soc., 1957, 79, 2112.
Lieben F. Geschichte der Physiol. Chemie, Leipzig, 1935.
Lohmann K. Naturwiss., 1929, 17, 624.
Lohmann K. Biochem. Z., 1932, 253, 431.
Lohmann K. Hdb. d. Bioch. d. Menschen u. d. Tiere. Herausgegeben von Prof. C. Oppenheimer, Ergenz., 1936, 3, 351.
Lorand L. Nature, 1953, 172, 1181.
Lorand L. Arch. Biochem. Biophys., 1955, 59, 125.
Lorand L., Moos C. Nature, 1956, 177, 1239.
Lüllmann H., Muscholl E. Arch. Exptl. Pathol. u. Pharmacol., 1955, 225, 6, 486.
Lundsgaard E. Biochem. Z., 1930, 217, 162.
Lundsgaard E. Biochem. Z., 1931, 233, 322.
Lundsgaard E. Biochem. Z., 1934, 269, 308.
Lundsgaard E. The Pasteur-Meyerhof reaction in muscle metabolism. Harvey Lecture 18, 1937, November.
Mackinnon D., Vles T. J. Roy. Micr. Soc., 1908, 553.
MacPhee J. Ciin. Sci., 1955, 14, 451.
Maley G. F., Lardy H. A. J. Biol. Chem., 1955, 215, 377.
Mandel P., Bieth R., Weill J. Bull. Soc. Chem. Biol., 1953, 35, 973.
Mann T. Biochem. J., 1945a, 39, 451.
Mann T. Nature, 1945б, 156, 80.
Marcaud—Raeber L., Schapira G., Dreyfus J. Bull. Soc. Chim. biol., 1959, 41, 2, 283.
Mariani A., Toschi G. Rendic. Acc. Naz. Lincei, 1953, 14, 285.
Marsh B. Nature, 1951, 167, 1065.
Martinek J., Mikulas I. Csl. fisiol., 1954, 3, 45.
Martius C. Thyroxin und oxidative Phosphorylierung. Confer. et rapp. pres. en 3ième. Congr. Intern. Biochim. Bruxelles, 1956, I.

Menne F., Beckmann R. Klin. Wschr., 1955, 33, 556.
Meyer K. Biochem. Z., 1929, 214, 253.
Meyerhof O. Pflüg. Arch., 1920, 185, II.
Meyerhof O. Biochem. Z., 1931, 237, 427.
Meyerhof O., Beck L. J. Biol. Chem., 1944, 156, 109.
Meyerhof O., Lohmann C., Meyer, Biochem. Z., 1925, 157, 459.
McLaughlin, Schiffman G., Szent-Györgyi A. Biochim. Biophys. Acta, 1955, 17, 169.
Michelazyi L., Mor M., Dianzani M. Experientia, 1955, 4, 73.
Michelazzi L., Mor M., Dianzani M. Experientia, 1957, 13, 117.
Mihalyi E., Laki K., Knoller M. Arch. Biochem. Biophys., 1957, 66, 130.
Mihalyi E., Szent-Györgyi A. G. J. Biol. Chem., 1953, 201, 211.
Mirsky A., Werteimer E. Biochem. J., 1942, 36, 221.
Mommaerts W. Am. J. Physiol., 1955, 182, 585.
Mommaerts W. F. H. M., Aldrich B. Biochim. Biophys. Acta, 1958, 28, 627.
Moog F. J. Exptl. Zool., 1947, 105, 29.
Moos C., Lorand L. Biochim. Biophys. Acta, 1957, 24, 461.
Morales M. Rev. Modern Phys., 1959, 31, 2, 426.
Morales M., Botts J. Arch. Biochem. Biophys., 1952, 37, 283.
Morales M., Botts J., Blum J., Hill T. G. Physiol. Rev., 1955, 35.
Moschini A. Arch. Physiol. u. Arch. int. Physiol., 1930, 28, 541; 1930, 32, 305.
Mosso A. Arch. Ital Biol., 1904, 41, 183.
Motidsuki, Okoti, Kojima. Vitamins, 1956, 10, 36 (японск.).
Munch-Petersen A. Acta Physiol. Scand., 1953, 29, 202.
Muralt A., Edsall J. J. Biol. Chem., 1930, 89, 315.
Nason A., Donaldson K., Lehman I. K. Trans N. Y. Acad. Sci., 1957, 20, 27.
Needham D., Cawkwell J. Biochem. J., 1956, 63, 357.
Needham D., Cawkwell J. Biochem. J., 1957, 65, 540; 1958, 68, 31.
Needham D., Williams J. Biochem. J., 1959, 73, 171.
Negrete-Martinez J. Rev. Inst. salubr. j. ebferm. trop., 1954, 14, 91.
Neuschloss S. Bioch. Z., 1932, 256, 51.
Niemierko W. Acta Biol. Exp. Warsava, 1929, 3, 143.
Noda N., Maruyama K. Biochim. Biophys. Acta, 1958, 30, 598; 1959, 32, 263.
Nogi Osada. Med. a. Biol., 1953, 28, 186 (японск.).
Ohlmayer P. Z. Naturforsch., 1946, I, 30.
Palmieri A., Giacca S. Arch. «E maragliano» pathol. e. clin., 1957, 13, 159.
Pappenheimer A. Am. J. Pathol. 1939, 15, 179.
Parnas J. O. Pflüg. Arch. ges. Physiol., 1910, 134, 441.
Pedersen-Bjergaard K., Tonnesen M. Acta Endocrinol., 1954, 17, 329.
Perkoff G., Tyler F. Metabolism, 1956, 5, 563.
Perry S. Biochem. J., 1951, 48, 257.
Perry S. Physiol. Rev., 1956, 36, I.
Perry S., Zydowo M. Biochem. J., 1959, 71, 220.
Pertocala R., Moscovici O. Riv. Inst. sieroterap. ital., 1958, 33, 107.
Portzehl H. Z. Naturforsch., 1951, 6b, 352.
Portzehl H. Z. Naturforsch., 1952, 7b, I.
Portzehl H. Biochim. Biophys. Acta, 1954, 14, 195.
Portzehl H. Biochim. Biophys. Acta, 1957, 24, 474.
Portzehl H. Biochim. Biophys. Acta, 1958, 24, 229.
Portzeh H. Цит. по H. Weber. The motility of muscle and cells. Harvard Univers., Cambridge, 1958.
Raeber L., Schapira G., Dreyfus J. C. R. Acad. Sc., 1955, 241, 1000.
Ranney R. E. Am. J. Physiol., 1954, 179, 99.
Reinhold J., Kingsley G. J. Clin. Invest., 1938, 17, 28.
Risser O., Jamada K. Arch. Exp. Pathol., 1933, 170, 208.
Robinson D. Biochem. J., 1952a, 52, 601.
Robinson D. Biochem. J., 1952б, 623 и 628.

Rozsa. Hung. Acta Physiol., 1946, I, 16.
Rüegg J. Verhandlungen des Schweizerischen Vereins für Physiologie, physiologische Chemie und Pharmakologie. 50 Tagung in Giessbach 15/16, Juni, C33, 1957.
Rüegg J. Biochem. J., 1958a, 69, 46; Biochem. Biophys. Acta, 1959, 35, 278.
Rüegg J. Proc. Biochem. Soc., 1958б, 69, 4.
Rüegg J. Supplement to international abstracts of biological sciences, 1958в.
Rumery R., Mauer S., Mason K. J. Exp. Zool., 1955, 129, 495.
Saad F., Kominz D., Laki K. J. Biol. Chem., 1958, 234, 551.
Sato T., Kasugai Th. J. Exp. Med., 1935, 26, 336.
Sawanischi M. Vitamins, 1953, 6, 333; 1953, 6, 338.
Schapira G., Coursaget J., Dreyfus J., Schapira F. Bull. Soc. Chem. Biol., 1953, 35, 1309.
Schapira G., Dreyfus J. C. a. Joly M. Nature, 1952, 170, 494.
Schapira G., Dreyfus J., Schapira F., Kruh J. Am. J. Physiol. Med., 1955, 34, 313.
Schapira G., Joly M., Dreyfus J., J. Physiol., France, 1956, 48, 702.
Schapira G., Joly M., Dreyfus J. Compt. Rend. Soc. Biol., 1954, CXLVIII, 1056.
Schmidt G. Z. physiol. Chem., 1928, 179, 243.
Schmidt G. Z. physiol. Chem., 1932, 208, 185.
Schönfelder H. Arch. exp. Path. u. Pharm., 1935, 180, 24.
Schönenberg H. Klin. Wschr., 1955, 33, 513.
Schultz E. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 1941, 48, 135.
Scow R. O., Hagan S. N. Am. J. Physiol., 1955, 180, 31.
Selby C., Bear R. J. Biophys. a. Biochem. Cytol., 1956, 2, 55.
Sheng Pei-Ken, Tsao Tien-Chin. Scientia Sinica, 1955, 4, 157.
Sheng Pei-Ken, Tsao Tien-Chin, Peng Chia-Mu. Scientia Sinica, 1956, 4, 675.
Sheng Pei-Ken, Tsao T. S. Scientia Sinica, 1955, 4, 157.
Shy G., Cummings D., Berg J.. Harvath V. J. Appl. Physiol., 1955, 8, 33.
Singer T. P., Barron E. S. G. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 1944, 56, 129.
Sjöstrand F. Ref. Conf. on Contractylyty, Pittsburg, 1960.
Sjöstrand F., Anderson E. Exp. Cel. Res., 1956, 11, 493.
Smith E. C. Bate. Proc. Roy. Soc. Biol., 1937, 124, 136.
Snell R., McIntyre N. Nature, 1955, 176, 884; Brit. J. Exp. Pathol., 1956, 37, 44.
Snellman O. Acta Chemica Scandinavica, 1958, 12, 503.
Snellman O., Erdös T. Biochim. Biophys. Acta, 1949, 3, 523.
Snellman O., Tenow M. Biochim. Biophys. Acta, 1954, 13, 199.
Soffer L. G., Geller G., Gabrilove J. L. Metabolism, 1958, 7, I, 97.
Spiser S., Bowen W. J. Biol. Chem., 1951, 188, 741.
Spiegel E. Handb. norm. u. path. Physiol., 1929, 9, 711.
Sjöstrand. F. Electron Microscop. Proceedings Stockholm Conference, 1956, 204.
Straub F. Studies from the Institute of Medical Chemistry, University Szeged, 1943, 2, 3; Straub F. Studies from Hu Institute of Medical Chemistry, University Szeged, 1942, 3, 23.
Straub F. Ann. Rev. Biochem., 1950, 19, 371.
Straub F. Biochemie, Budapest, 1960.
Straub F., Feuer. Biochim. Biophys. Acta, 1950, 4, 455.
Straub F., Sekel M. Hung. Acta Physiol., 1951, 2, 311.
Swedin B., Bramante F., Ryttinger L. Acta Pathol. Microbiol. Scand., 1956, 39, 252.
Szent-Györgyi A. Studies from the Institut of Medical Chemistry. University Szeged., 1942, 2, 25.
Szent-Györgyi A. Acta Physiol. Scand., 1945, 9, 25.
Szent-Györgyi A. Chemistry of muscular contraction, New York, 1947.
Szent-Györgyi A. G. Adv. Enzymol., 1955, 16, 313.

Szent-Györgyi A. G. Bioenergetics. Acad. Press, New York, 1957.
Szent-Györgyi A., Borbiro M. Arch. Biochem. Biophys., 1956, 60, 180.
Szent-Györgyi A., Mazia D., Szent-Györgyi A. Biochem. Biophys. Acta, 1955, 16, 339.
Tokumaru S., Kondo T., Sigi K., Kuboyama T., Vitamins, 1953, 6, 335 (японск).
Tonomura. J. J. Res. Inst. Catalysis Hokkaido University, 1956, 4, 87.
Tonomura J., Kitagawa S. Biochim Biophys. Acta, 1957, 26, 15.
Torre M., Scarzella R., Zanalda A. Boll. soc. ital biol. sperim., 1955, 31, 723.
Toschi G., Mariani A. Rendic. Acc. Naz. Lincei, 1953, 14, 285.
Toschi G., Mariani A. Rendic. Acc. Naz. Lincei, 1954, 16, 365.
Tower D., Peters E., Pogorelskin M. Neurology, 1956, 6, 125.
Tremolieres J., Derache R., Gpiffaton G. Ann. Endocrinol., 1955, 16, 362.
Tsao T. C. Biochim Biophys. Acta, 1953, II, 227.
Tsao T. C. Biochim. Biophys. Acta, 1953, 11, 368.
Tsao T., Bailey K. Biochim Biophys. Acta 1953, 11, 102.
Tsao T. C., Hsu-Kai. Acta Physiol. Sinica, 1956, 20, 189.
Tsao T. C., Hsu K., Jen M. H.., Pan C. H., Tan P. H. Tao T. C., Wen H. Y., Niu C. J. Scientia Sinica, 1958. 7, 6, 637.
Turba F., Kuschinsky G. Biochim Biophys. Acta, 1952, 8, 76.
Uexküll J. Z. Biol., 1912, 58, 312.
Uexküll J. Handb. norm. pathol. Physiol., 1929, 9, 743.
Ulbrecht, Ulbrecht. Biochim. Biophys. Acta, 1957, 25, 100; 1957, 25, 110.
Varga E., König T., Kiss E., Kovacs T., Hegedus L. Acta Physiol. Acad. Scient. Hung., 1955, 7, 171.
Varga E., Köver A., Kövacs T., Hetenyi E. Acta Physiol. Hung., 1957, 11, 235, 243.
Vatarai, Okavati, Kooka, Miyake, Kinugasa. Vitamins, 1953, 6, 350 (японск.).
Velick S. Biochem. Biophys. Acta, 1956, 20, 228.
Victor I. Am. J. Physiol., 1934, 108, 229.
Villafranca G. Arch. Biochem. Biophys., 1956, 61, 378.
Weber Annemaria, Hasselbach W. Biochim Biophys. Acta, 1954, 15, 237.
Weber H. Biochem. Z., 1933, 266, 137.
Weber H. Ergebn. Physiol. Exp. Pharmacol. 1934, 36, 109.
Weber H. Z. Elektrochem., 1951, 55, 511.
Weber H. Z. Elektrochem., 1955, 55, 511.
Weber H. Biochim Biophys. Acta, 1956, 19, 345.
Weber H. The motility of muscle and cells. Harvard Univ. Cambridge, 1958.
Weber H. Ann. New York Acad. Sci, 1959, 81, 409.
Weber H., Meyer K. Bioch. Z., 1933, 266, 137.
Weber H. H., Portzehl H. Ergebn. Physiol., 1952, 47, 369.
Weber H., Stover R. Biochem J., 1933, 259, 269.
Weinstock I. Am. J. Phys. Med., 1955, 34, 320.
Weinstock I., Goldrich A., Milhorat A. Proc. Soc. Exptl. Biol. a. Med., 1955, 88, 257; 1956, 91, 302.
Weizsäcker V. Pflüg. Arch., 1911, 141, 457.
Weizsäcker V. Pflüg. Arch., 1912, 147, 135.
Wen H. Y., Nin C. J. Scientia Sinica, 1958, 11, 6.
Werner I., Björnesjö K. Scand. J., Clin. Labor. Invest., 1956, 8, 333.
Whedon D., Shorr E. J. Clin. Invest., 1957, 36, 924, 966, 982, 995.
White A. A., Hess W. C. Proc. Soc. Exptl. Biol. a. Med., 1957, 94, 541.
Wilson G. Sth. Med. J., 1957, 50, 460.
Wislicenus I., Fick A. Zurich Vierteljahr. d. Nat. Forsch. Ges., 1865, 10, 317.
Zierler K. L. Am. J. Physiol., 1957, 190, 201; Bull. Johns Hopkins Hospitals, 1958, 102, 17.
Ziff M. J. Biol. Chem., 1944, 153, 25.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие 3

Часть первая

ОСНОВНЫЕ СВЕДЕНИЯ ПО БИОХИМИИ, МОРФОЛОГИИ И ФИЗИОЛОГИИ МЫШЕЧНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

Глава I. **Некоторые вводные сведения о морфологии, физиологии и биохимии мышц различных типов** 7

Поперечнополосатая мускулатура (анимальная, скелетная или соматическая мышечная ткань позвоночных) 8

Саркоплазма 9

Миофибриллы 11

Гладкая мускулатура и особенности ее сократительной деятельности 19

Некоторые особенности сократительной деятельности сердечной мышцы 31

Биоэлектрическая активность при возбуждении мышцы 33

Глава II. **Некоторые данные из истории развития мышечной биохимии** 35

Энергетические субстраты мышечной деятельности . . . . . —

Развитие представлений о путях использования энергии химических превращений в мышце 42

Глава III. **Дальнейшее развитие исследований по механохимии мышц (современное состояние вопроса)** 56

Исследование роли АТФ в акте мышечного сокращения . . . . . —

Роль фактора расслабления Марша 69

Глава IV. **Некоторые данные о механохимии и термодинамике мышечной деятельности** 73

Глава V. **Химический состав мышц** 82

Химический состав поперечнополосатых мышц . . . . . —

Мышечные белки 83

Саркоплазматические белки, растворимые в солевых средах с низкой ионной силой 84

Миофибриллярные белки 89

Миозин (*L*-миозин Вебера, β-миозин Дюбюиссона) . . . 90

Актин 95

Актомиозин (миозин *B*, α-миозин Дюбюиссона, S-миозин Вебера) 97

Тропомиозин 106

Другие водорастворимые миофибриллярные белки . . . 111

Белки стромы 114

Другие белковые вещества, входящие в состав мышечных волокон . . . . . —

Важнейшие небелковые (экстрактивные) азотистые вещества мышц . . . . . .
Важнейшие безазотистые вещества мышц 116
Минеральные элементы 118
Химический состав гладких тонических мышц 119
Белки гладкой тонической мускулатуры позвоночных животных 121
Другие химические вещества . . . . . —
Сердечная мышца (миокард) 126
Глава VI. **Белки скелетных мышц в онтогенезе** . . . . . —
Глава VII. **Данные о химических превращениях, снабжающих энергией различные виды подвижных клеток и одноклеточных организмов** 136

Часть вторая

ПАТОБИОХИМИЯ МЫШЦ

Глава VIII. **Денервация** 151
Изменения мышц при денервации . . . . . —
Белки мышц и азотистый обмен 152
Углеводно-фосфорный обмен 158
Углеводно-фосфорный обмен в работающей денервированной мышце 159
Ферменты мышцы 161
Минеральный обмен 165
Десимпатизация мышц 166
Выключение чувствительной иннервации 167
Биохимические процессы в мышцах при реиннервации 168
Глава IX. **Тенотомия** 169
Биохимические изменения в тенотомированных мышцах 170
Азотистый обмен и белки мышц . . . . . —
Нарушение углеводно-фосфорного обмена 172
Биохимические сдвиги при иммобилизации 173
Глава X. **Прогрессивные мышечные атрофии** 175
Биохимические изменения при прогрессивных мышечных атрофиях 177
Белки мышц и азотистый обмен . . . . . —
Азотистые экстрактивные вещества мышц 180
Ферменты 183
Углеводно-фосфорный обмен 186
Минеральный обмен 188
Глава XI. **Полиомиелит и некоторые другие формы мышечной патологии** 190
Биохимические изменения при полиомиелите 191
Белки мышц и азотистый обмен . . . . . —
Углеводно-фосфорный обмен 198
Другие биохимические изменения при полиомиелите 199
Другие формы мышечной патологии 201
Глава XII. **Патобиохимические изменения в мышцах при некоторых общих заболеваниях** 204
Биохимические изменения в мышцах при некоторых гормональных нарушениях . . . . . —
Надпочечники . . . . . —
Щитовидная железа 206
Половые железы 207
Авитаминозы 209
Биохимические сдвиги в мышечной ткани при некоторых инфекциях и интоксикациях 213

Микробные и вирусные заболевания 213
Отравления 215
Глава XIII. **Биохимические нарушения в мышцах при наложении жгута** 216
Белки мышц и азотистый обмен 217
Углеводно-фосфорный обмен 219
Ферменты мышц . . . . . —
Биохимические сдвиги после снятия жгута 221
Глава XIV. **Изменение белкового состава мускулатуры сосудистой стенки при гипертонической болезни** 223

Часть третья

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Глава XV. **Методы получения некоторых мышечных белков и способы их исследования** 233
Приготовление актомиозина (миозина В) . . . . . —
Приготовление актина (по Штраубу) . . . . . —
Выделение миозина «А» из мышц 234
Приготовление «искусственного» актомиозина 235
Техника приготовления актомиозиновых нитей . . . . . —
Получение очищенного миозина . . . . . —
Получение кроличьего миозина, не содержащего примеси Ф-актина и актомиозина 236
Определение аденозинтрифосфатазной активности миозина . . . 237
Получение кроличьего тропомиозина (по Бэйли) 238
Получение миофибриллярного водорастворимого белка Цао . . . 240
Схема фракционирования мышечных белков (по И. И. Иванову с сотрудниками) 241
Фракционирование мышечных белков по И. И. Иванову с сотрудниками (1959 г.) . . . . . —
Получение «клеточных моделей» 242
Глава XVI. **Электрофорез мышечных белков** . . . . . —
Методика электрофоретических исследований мышечных белков 244
Экстрагирование мышечных белков 245
Свободный электрофорез мышечных белков 247
Электрофорез мышечных белков на бумаге 248
Техника электрофореза на бумаге 250
Препаративный электрофорез мышечных белков на бумаге . . 254

Литература 256

Иванов Илья Ильич,
Юрьев Владимир Анатольевич

Биохимия и патобиохимия мышц

*

Редактор *А. Н. ПАРШИН*

Техн. редактор *З. В. Чунаева*
Переплет художника *О. П. Андреева*
Корректоры *Г. В. Ананьев и В. Н. Герасимова*

Сдано в набор 20/I 1961 г. Подписано к печати 9/V 1961 г. Тираж 5.000 экз. Формат бум. 60 × 92¹/₁₆. 8,63 бум. лист. 17,25 печ. лист. 19,13 учетно-издат. лист. Заказ № 2708 М-35769
Цена 1 руб. 16 коп.

Лен. отд. Медгиза. Ленинград, Невский пр., 28.
Типография № 4 УПП Ленсовнархоза, Ленинград, Социалистическая, 14.

Страница	
23	
52	
96	2
121	1

„Биохимия"

Замеченные опечатки

Страница	Строка	Напечатано	Следует читать	По чьей вине
23	6 снизу	напряжение, функцию	напряжение	Редакции
52	9 »	гладкой + 2АТР	гладкой + АТР	Автора
96	22 »	5600	56000	Корректора
121	11 сверху	вещества,	вещества:	Автора

Техн. редактор *З. В. Чунаева*
Переплет художника *О. П. Андреева*
Корректоры *Г. В. Ананьев и В. Н. Герасимова*

Сдано в набор 20/I 1961 г. Подписано к печати 9/V 1961 г. Тираж 5.000 экз. Формат бум. 60 × 92 1/16. 8,63 бум. лист. 17,25 печ. лист. 19,13 учетно-издат. лист. Заказ № 2708 М-35769
Цена 1 руб. 16 коп.

Лен. отд. Медгиза. Ленинград, Невский пр., 28.
Типография № 4 УПП Ленсовнархоза, Ленинград, Социалистическая, 14.

1 р. 16 к.

МЕДГИЗ · 1961

БИОХИМИЯ и ПАТОБИОХИМИЯ МЫШЦ

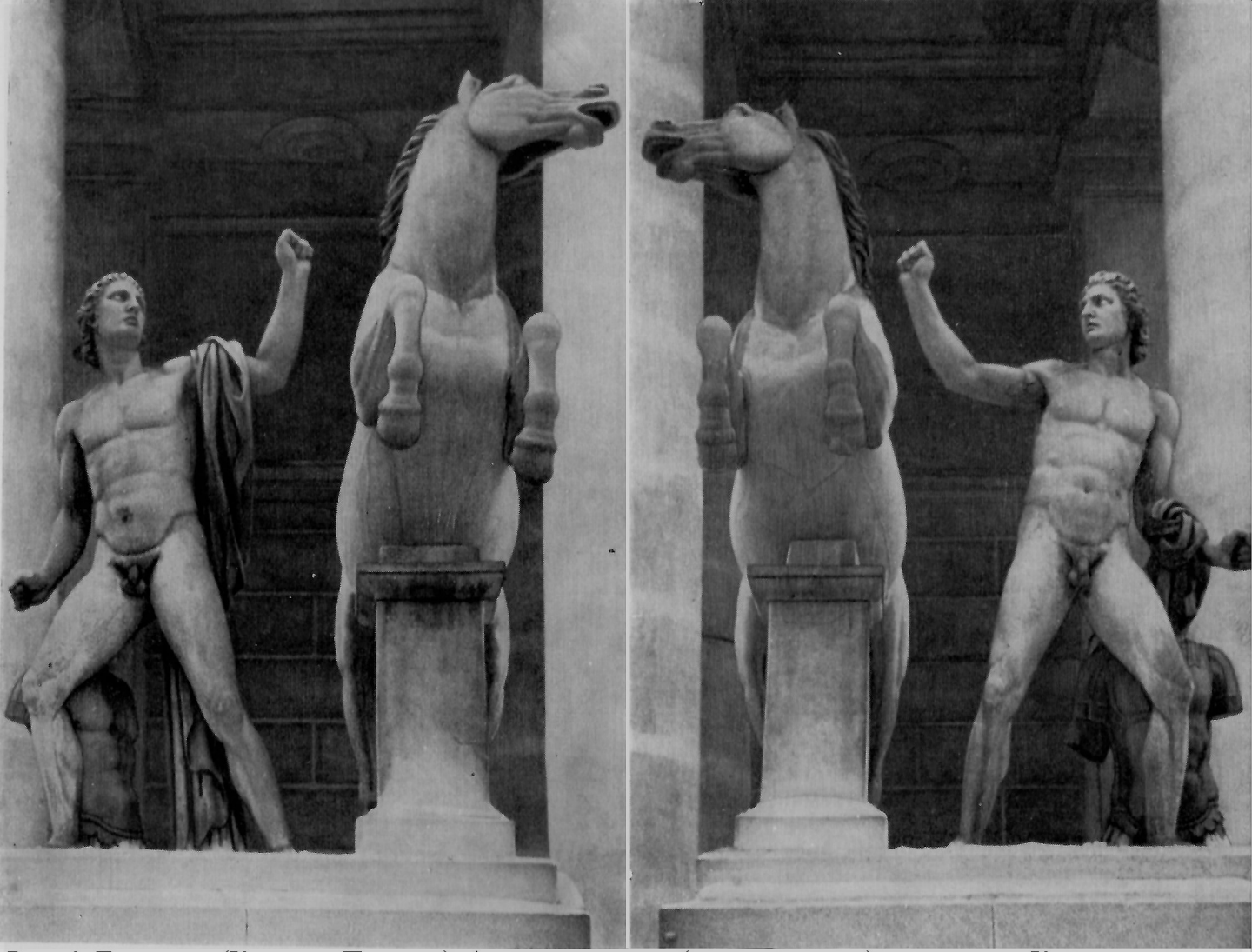


Рис. 6. Диоскуры (Кастор и Поллукс). Античные статуи (симметричные) на площади Квиринала в Риме. Копии в Ленинграде.

Человек

Napoli - Museo Nazionale - Ces
Prof. J. Götz. „Weibliche Figur"
Museo Vaticano. Venere Gou

PIC•COLLAGE